

УДК 57.044: 546.56: 595.1

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ НА АКТИВНОСТЬ
АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЧЕРВЯ РОДА EISENIA FETIDA****Гончарова М.В.***Оренбургский государственный университет, Оренбург, e-mail: mgoncharova894@mail.ru*

В статье рассматривается влияния различных дозировок наночастиц меди на активность антиоксидантных ферментов – каталаза, глутатионпероксидаза. Так же описывается накопление малонового альдегида в черве. Дождевые черви составляют важную группу почвенных организмов с точки зрения биомассы для поддержания структуры почвы и плодородия. Изучению токсичности металлов для дождевых червей, в частности в наноформе уделяется мало внимания по сравнению с другими тяжелыми металлами. Роль дождевых червей в разложении органического вещества и отходов определяет их использование в качестве индикаторных организмов. Проведение экотоксикологических исследований на дождевом черве относительно проста, что облегчает измерение параметров жизненного цикла, а также определение степени накопления и выведение загрязняющих веществ и оценке биохимических реакций.

Ключевые слова: антиоксидантные ферменты, дождевые черви, экотоксикологическое исследование

**INFLUENCE OF COPPER NANOPARTICLES ON THE ACTIVITY
OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN THE WORM OF THE GENUS EISENIA FETIDA****Goncharova M.V.***Orenburg state University, Orenburg, e-mail: mgoncharova894@mail.ru*

The article discusses the effect of different doses of nanoparticles copper on the activity of antioxidant enzymes – catalase, glutathione peroxidase. It also describes the accumulation of malonic aldehyde in the worm. Earthworms constitute an important group of soil organisms from the point of view of biomass to maintain soil structure and fertility. The study of toxicity of metals to earthworms, in particular in nanopore pays Xia little attention compared to other heavy metals. The role of earthworms in decomposition of organic matter and wastes determines their use as indicator organisms. Conduct ecotoxicological research on rain worm is relatively simple, which facilitates the measurement of the parameters of the life cycle, as well as the determination of the degree of accumulation and excretion of pollutants and assessing biochemic-ing reactions.

Keywords: antioxidant enzymes, earthworms, ecotoxicologic-cal study

Дождевые черви составляют важную группу почвенных организмов с точки зрения биомассы для поддержания структуры почвы и плодородия. Дождевые черви были отобраны на основе их экологической значимости. Они поглощают большое количество грунта, и они постоянно подвергаются воздействию загрязняющих веществ путем прямого кожного контакта с химическими веществами в почвенном растворе и почвенной атмосферы.

Активность наночастиц и взаимодействие их с почвой может значительно измениться за счет агрегации, освобождение иона металла, окисления и сорбции компонентов в почву, среди других процессов; что в свою очередь может изменить токсичность наночастиц. Накопление металлов при высоких концентрациях могут нарушить почвенные экосистему путем воздействия на население и деятельность почвенных организмов [1].

Таким образом, эксперименты, проведенные с использованием естественных почв важны для изучения токсичности, так как более реалистично напоминают условия

окружающей среды. В тоже время многие исследования были проведены с ограниченным числом параметров, что не позволяет получить знания о потенциальных долгосрочных эффектах воздействия различных форм металлов на почву и почвенные организмы.

В этом исследовании, дождевые черви (*Eisenia fetida*) подвергались воздействию наночастиц Zn в различных концентрациях, на естественном грунте с целью оценить потенциальные острые и долгосрочные последствия воздействия. Были протестированы концентрации 50, 100, 200, 400 мг/кг сухого грунта на рост, биодоступность, активность ферментов. А также были оценены физико-химические показатели почв [2].

В исследованиях использовали наночастицы, приобретенные в Advanced powder technologies LLC (Россия, г. Томск) и ООО «Plasmotherm». Наночастицы получены методом электрического взрыва проводника в атмосфере аргона.

В исследованиях использовались черви *Eisenia fetida* культивируемые в питомнике Лаборатории агроэкологии техноген-

ных наноматериалов Всероссийского НИИ мясного скотоводства Россельхозакадемии, Оренбург, Россия, приобретенные в ООО «БиОЭра-Пенза», г. Пенза. Червей выращивали в конском навозе без каких-либо лекарственных препаратов при 22 ± 2 °С.

Отобранные для исследования половозрелые черви массой 300-400 мг акклиматизировались течением 7 суток на чистой почве при постоянной температуре 22 °С.

Определение активности антиоксидантных ферментов в *Eisenia fetida* проводили следующим образом: после очищения пищеварительного тракта ткани червей были гомогенизированы на гомогенизаторе тканей TissueLyser LT, QIAGEN (QIAGEN, Германия). Полученный гомогенат центрифугировали 10 мин при 15000 об/мин. Полученный супернатант разбавляли буферной смесью до 10% гомогената.

В гомогенате тканей червя определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА), а также активность ключевых звеньев системы антиоксидантной защиты – каталазы и супероксиддисмутазы на автоматическом биохимическом анализаторе CS-T240 («Dirui Industrial Co., Ltd», Китай) с использованием коммерческих биохимических наборов Randox (США). Для этого готовились вытяжки путем гомогенизации в буферной (Tris 50 ммоль / л, DTT 1,0 ммоль / л, EDTA 1,0 ммоль/л, сахароза 250 ммоль/л, pH 7,5), которую добавляли в соотношении 1:9.

Определение уровня ферментов осуществлялось на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Stat fax 1904 Plus (производитель – Awareness Technology Inc, США) с использованием коммерческих наборов фирмы Randox (США).

Дождевые черви перерабатывают большое количество почвы, и поэтому постоянно находятся под воздействием веществ адсорбированных на твердых частицах почвы. Важным звеном в определении безопасных уровней металлов и других загрязнителей в почве являются дождевые черви, они наиболее чувствительны к загрязнению металлами, чем другие почвенные беспозвоночные [3].

Высокая информативность данной модели определяется биологическими особенностями дождевого червя. Загрязняющие вещества проникают в организм животного различными способами, так как кожа очень проницаема для воды она представляет собой основной путь поглощения веществ,

тесты загрязняющие вещества попадают с водой.

В почве в большом количестве находится цинк и медь, и дождевые черви терпят высокие концентрации этих металлов и накапливают их, что выражается в их способности в поглощении и обороте этих тяжелых металлов.

При оценивании потенциальной опасности различных веществ, которые загрязняют окружающую среду, для почвенных экосистем используют острые тесты и хронические тесты на дождевом черве в различных субстратах. Это помогает оценить качественные и количественные данные при воздействии вредных химических веществ и соединений на почвенные организмы и в частности на дождевых червей [4].

Способность *Eisenia fetida* накапливать металлы или органические загрязнения лежит в основе влияния ксенобиотиков на характер эндогенного метаболизма и системы оперативного использования антиоксидантной системы, которая интересна для изучения в качестве биомаркера [2].

На 28 сутки экспозиции под действием наночастиц меди развитие оксидативного стресса выражалось в тотальном увеличении уровня прооксидантных ферментов. Максимальный уровень малонового диальдегида (МДА), как маркера перекисного окисления липидов, был установлен при дозе НЧ 400 мг/кг, с разницей с контролем – 62,7%. При низких и средних концентрациях (50-200 мг/кг) активность МДА была в диапазоне 24-55% относительно контрольных значений.

В ходе оценки антиоксидантного статуса активность ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы установлено, что под действием НЧ Cu, незначительное увеличение СОД наблюдалось при концентрациях 50 и 100 мг/кг, с последующим снижением при дозе 200 и 400 мг/кг на 13 и 22% соответственно. Тогда как активность КАТ имела высокий уровень активности при низких и средних дозах НЧ. Увеличение нагрузки до 400 мг/кг приводит к ингибции ферментативных реакций, что проявилось в снижении ее активности на 16% относительно контрольных значений. В этой связи можно предположить, что на фоне усиления уровня работы антиоксидантной защиты организм червя способен выдерживать нагрузку НЧ цинка до 200 мг/кг, тогда как при увеличении дозы до 400 мг/кг происходит напряжение адаптационных

механизмов, что проявляется в снижении активности антиоксидантных ферментов.

Значения биокоммуляции зависели от уровня наночастиц почвенном субстрате. Максимальный уровень биоаккумуляции меди 16,03 установлен при дозе 100 мг/кг, тогда как при средних (200 мг/кг) и высоких (400 мг/кг) концентрациях его показатель снижается до 2,83 и 2,57 соответственно. Больше того значения биоаккумуляции показывают отношение между содержанием металла в черве и его содержанием в почве, т.е. зависит от способности отдачи ионов металла в почвенный субстрат.

На фоне различного уровня биокоммуляции, степень поглощения и скорость накопления металла в организм червя увеличивались в зависимости от величины дозовой нагрузки на почвенный субстрат. В частности при нулевом воздействии показатель скорости накопления соответствовал значению 0,63 мг/кг/сут, а показатель степени поглощения соответствовал значению 0,53 мг/%, тогда как с увеличением концентрации до 400 мг/кг скорость накопления

и степень поглощения меди была на 83,0% и 83,8% больше чем в контроле.

Таким образом, наибольшее значение биоаккумуляции установлено при дозе наночастиц – 100 мг/кг, тогда как значения степени поглощения и скорости накопления возрастали линейно с увеличением нагрузки на почвенный субстрат.

Список литературы

- 1 Beyer W.N. Relations of pH and other soil variables to concentrations of Pb, Cu, Zn, Cd and Se in earthworms / W.N. Beyer, G. Hensler, J. Moore // *Pedobiologia*. – 1987. – V. 30. – P. 167–172.
- 2 Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to pyrene, a non-carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon / P.J. Brown [et al.] // *Chemosphere*. – 2004. – V. 57. – P. 165–168.
- 3 Cu and Cd effects on the earth worm *Lumbricus rubellus* in the laboratory: multivariate statistical analysis of relationships between exposure, biomarkers, and ecologically relevant parameters / M.G. Burgos [et al.] // *Environmental Science and Technology*. – 2005. – V. 39. – P. 175–176.
- 4 Chelikani P. Diversity of structures and properties among catalases / P. Chelikani, I. Fita // *Loewen : Cell Mol Life*, 2004. – 192–208 p.
- 5 Conder J.M. Evaluation of surrogate measures of cadmium, lead, and zinc bioavailability to *Eisenia fetida* / J.M. Conder, R.P. Lanno // *Chemosphere*. – 2000. – V. 41. – P. 165–168.