

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области  
.....  
**Электронный научно-производственный журнал**  
**«АгроЭкоИнфо»**

---

---

УДК 631.41

**Константа Михаэлиса для биохимической индикации качества вод в  
природных водных объектах Московской области**

*Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В.*

*Московский государственный областной университет*

**Аннотация**

*В работе представлены результаты изучения взаимосвязи биохимического показателя – константы Михаэлиса  $K_M$  фермента кислой фосфатазы брюхоногого моллюска живородка речная (*Viviparus viviparus* L.) со степенью загрязненности водных объектов Московской области, в которых обитают эти моллюски. Сильная обратная корреляция значений  $K_M$  наблюдается с концентрациями токсичных ионов  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , и суммой ионов токсичных металлов  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ , что свидетельствует о возможности применения этого биохимического показателя в качестве биоиндикатора экологической загрязненности водных систем*

**Ключевые слова:** *МОСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ, ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ, БИОИНДИКАЦИЯ, БРЮХОНОГИЕ МОЛЛЮСКИ, КИСЛАЯ ФОСФАТАЗА, ТЯЖЕЛЫЕ И ТОКСИЧНЫЕ МЕТАЛЛЫ*

---

**Введение**

Антропогенное воздействие влечет за собой проникновение в природную среду химических соединений, чуждых биологическим системам и оказывающим на них токсическое воздействие. Достаточно актуальным является выявление взаимосвязей между биохимическими параметрами живых объектов и загрязненностью природных сред. Способ биохимической индикации экологического состояния водоемов с использованием константы Михаэлиса ферментов гидробионтов в качестве маркера функционального состояния организма уже упоминался в литературе [1, 2, 3]. Известный биохимический параметр – константа Михаэлиса ( $K_M$ ) соответствует половине скорости ( $V_{max}$ )

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области  
.....  
**Электронный научно-производственный журнал**  
**«АгроЭкоИнфо»**

---

---

ферментативной реакции и, чем ниже значение  $K_M$ , тем меньше надо субстрата для достижения этого значения скорости, что имеет место при высоком сродстве субстрата к ферменту. Настоящая работа посвящена выявлению таких зависимостей между значениями константы Михаэлиса фермента обменного комплекса – кислой фосфатазы (КФ) моллюска *Viviparus viviparus L.* и загрязнённостью водоемов Московской области, в которых обитали эти моллюски.

### Материалы и методы

Ранее нами изучалось содержание экотоксикантов в водных объектах Московской области [4, 5]. Станции сбора располагались: станция 1 – Пушкинский р-он, с. Тишково (на правом берегу реки Вязь); станция 2 – Можайский р-он, пос. Колычево (на правом берегу реки Мжуть); станция 3 – безымянный ручей возле лесного массива на окраине дачного посёлка севернее Фрязино; станция 4 – платформа «Фрязино-Пассажи́рская» Ярославской ж/д (по берегам искусственной запруды на реке Любосеевка). На каждой станции было отобрано по 6 особей моллюска, которых в дальнейшем анализировали индивидуально. Объекты были классифицированы по четырем основным группам: олигосапробные,  $\beta$ -мезосапробные,  $\alpha$ -мезосапробные и полисапробные. Данные группы сапробности соответствуют следующим уровням природной трофии: олигосапробности соответствует класс мезотрофии,  $\beta$ -мезосапробности – класс эвтрофии,  $\alpha$ -мезосапробности и полисапробности – класс гипертрофии (ГОСТ 17.1.2.04-77). Для исследуемых водных объектов был проведен количественный анализ наиболее распространенных токсикантов, наиболее часто встречающихся в условиях техногенного загрязнения окружающей среды и потому широко используемых в качестве основных показателей токсической нагрузки на водоем: ионы металлов ( $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ) полихлорированные бифенилы (ПХБ) и нефтепродукты. Указанные токсиканты определяли стандартными методами в водных вытяжках из проб донного грунта, полученных непосредственно перед анализом [6, 7, 8].

При изучении активности КФ живородки выявлено, что значения различаются столь существенно, что использовать этот биохимический параметр непосредственно не представлялось возможным, однако величины  $K_M$  оказались более однородными внутри выборок, а между выборками достоверно отличались друг от друга.  $K_M$  исследуемого

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
 для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области  
 .....  
**Электронный научно-производственный журнал**  
**«АгроЭкоИнфо»**

---

фермента определяли с серией растворов субстрата – р-нитрофенилфосфата, концентрацией от 0,01 мМ до 3 мМ для кислой фосфатазы. Значения вычисляли по графику зависимости активности фермента от концентрации субстрата по методу Лайнуивера-Берка с помощью созданного в программе MS Excel специального алгоритма [9, 10, 11]. Полученные значения  $K_M$  для кислой фосфатазы приведены в табл. 1.

Таблица 1. Значения константы Михаэлиса КФ моллюсков из разных водоемов Московской области

Станция сбора	Кислая фосфатаза
	$K_M, 10^{-6} \text{ M}$
1 – Тишково	0,092±0,001
2 – Колычево	0,519±0,011
3 – Фрязино	0,203±0,003
4 – Фрязино-Пасс.	0,074±0,001

### Результаты и обсуждение

В изученных  $\alpha$ - и  $\beta$ -мезосапробных водоемах, занимающих промежуточные положения по содержанию токсических веществ, величины  $K_M$  имеют средние значения по выборке, причем достоверно более высокие значения в менее загрязненных водоемах  $\beta$ -мезосапробного типа и наоборот. На основании полученных значений построены графики зависимости константы Михаэлиса от концентраций экотоксикантов в водных объектах (рис. 1).

Графики имеют отрицательные корреляции, что хорошо согласуется со смыслом величины  $K_M$ . Наиболее значительной зависимостью величин  $K_M$  наблюдается от токсичных ионов  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , и суммы ионов токсичных металлов  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ , для которых коэффициенты корреляции составляют  $r = -0,833$ ;  $-0,7526$ ;  $-0,702$ , соответственно. Существенной является корреляция с присутствующими нефтепродуктами ( $r = -0,625$ ), менее значима зависимость  $K_M$  от полихлорбензолов ( $r = -0,429$ ) и практически статистически отсутствует зависимость от концентрации ионов  $\text{Zn}^{2+}$  ( $r = -0,320$ ).

Полицарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
 для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области  
 .....  
 Электронный научно-производственный журнал  
 «АгроЭкоИнфо»  
 =====

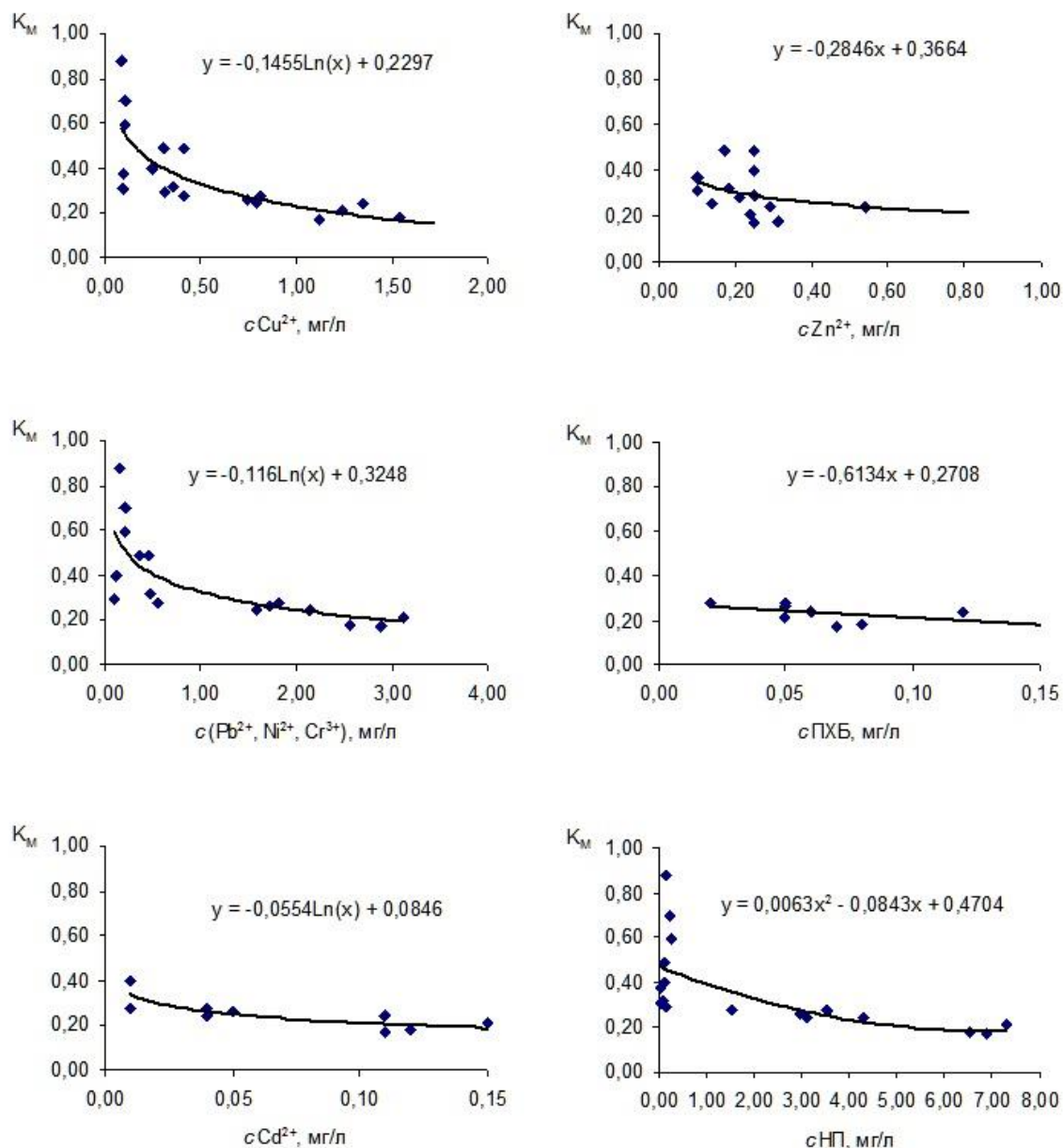


Рис. 1. Зависимости констант Михаэлиса от концентраций токсикантов в водных объектах

Биохимическое воздействие цинка, по-видимому, несколько искажается в связи с его возможным присутствием в кофакторе кислой фосфатазы. Известно, что цинк является микроэлементом необходимым в низких концентрациях и содержится в ряде ферментов в ощутимых количествах [12, 13, 14]. Учитывая токсичность исследованных экотоксикантов, полученный результат, устанавливающий зависимость биохимического показателя –

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области  
.....  
**Электронный научно-производственный журнал**  
**«АгроЭкоИнфо»**  
=====

константы Михаэлиса от концентрации повреждающих экологических факторов в природных водах, представляется логичным и не противоречит имеющимся данным о влиянии экотоксикантов на состояние гидробионтов [15, 16, 17, 18]. Причины существенного увеличения сродства фермента моллюска к субстрату, которое характеризуется низкими значениями  $K_m$ , по-видимому, связаны с биохимическим полиморфизмом в условиях сильной загрязненности.

### **Заключение**

Установленные корреляции  $K_m$  с условиями обитания моллюсков подтверждают взаимосвязи между биохимическими параметрами метаболизма моллюсков, высокой адаптивной возможности последних, позволяющей обитать даже в весьма неблагоприятных по гидробиологическому состоянию водоемах, и возможности использования константы Михаэлиса для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах и биохимического мониторинга их экологического состояния.

### **Список использованных источников**

1. Поликарпова Л.В., Цветков И.Л., Коничев А.С. Константа Михаэлиса–Ментен кислой фосфатазы, как критерий антропогенного влияния на внутривидовую дифференциацию леща (*Abramis brama*) в Рыбинском водохранилище // Материалы IV всероссийской конференции по водной экотоксикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова: «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы». Часть 1. 2011. С. 203–207.
2. Поликарпова Л.В. Константа Михаэлиса кислой фосфатазы как критерий внутривидовой дифференциации гидробионтов открытых водоемов Московской области // Сборник научных трудов по материалам международной заочной научно-практической конференции «Наука сегодня: теоретические аспекты и практика применения». Часть 4. 2011. С. 98–100.
3. Цветков И.Л., Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Коничев А.С. Константа Михаэлиса как биохимический критерий внутривидовой дифференциации моллюсков // Вестник МГОУ. Серия: Естественные науки. 2012. № 4. С. 67–71.
4. Ворончихина К.А., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Оценка экологического состояния поверхностных вод урбанизированных территорий Московского региона по их

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
 для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области  
 .....  
**Электронный научно-производственный журнал**  
**«АгроЭкоИнфо»**  
 =====

макрокомпонентному составу // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2017. № 4. С. 76–86.

5. Петренко Д.Б., Гладнева О.А., Ворончихина К.А., Васильев Н.В. Содержание фторид-ионов в поверхностных водах урбанизированных территорий Московского региона // Теоретическая и прикладная экология. 2017. №3. С. 65–72.

6. Унифицированные методы анализа вод / Под ред. Ю.Ю. Лурье. М.: Химия, 1973. 376 с.

7. Семенов А.Д. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши. Л.: Гидрометеиздат, 1977. 541 с.

8. Другов Ю.С., Муравьев А.Г., Родин А.А. Экспресс-анализ экологических проб. М.: Бином. Лаборатория знаний. 2010. 424 с.

9. Березин И.В., Мартинек К. Основы физической химии ферментативного катализа. М.: Высшая школа. 1977. 280 с.

10. Heinonen J.K., Lahti R.A. A new and convenient colorimetric determination to the assay of inorganic pyrophosphatase // Anal. Biochem. 1981. Vol. 113. № 2. P. 313–317.

11. Johnson K. A., & Goody R. S. The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper // Biochemistry. 2011. Vol. 50 (39). P. 8264–8269.

12. McCall K. A., Huang C.–C., & Fierke C. A. Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes // The Journal of Nutrition. 2000. Vol. 130 (5). P. 1437S–1446S.

13. Stefanidou M., Maravelias C., Dona A., Spiliopoulou C. Zinc: a multipurpose trace element // Archives of Toxicology. 2005. Vol. 80 (1). P. 1–9.

14. Oje O.A., Uzoegwu P.N., Onwurah I.N., Nwodo U.U. Environmental pollution levels of lead and zinc in Ishiagu and Uburu communities of Ebonyi State, Nigeria // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2010. Vol. 85 (3). P. 313–317.

15. Etxeberria M., Sastre I., Cajaraville M.P., Marigomez I. Digestive lysosome enlargement induced by experimental exposure to metals (Cu, Cd, and Zn) in mussels collected from a zinc-polluted site // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1994. V. 27. P. 338–345.

16. Geret F., Cosson R.P. Induction of specific isoforms of metallothionein in mussel tissues after exposure to cadmium or mercury // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2002. V. 42. № 1. P. 36–42.

17. Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В., Цветков И.Л. Метаболическая адаптация речной живородки (*Viviparus viviparus* L.) к сублетальному токсическому воздействию тяжелых металлов // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2014. № 4. С. 22–27.

18. Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В., Коничев А.С. Белковые спектры живородки речной в норме и при интоксикации ионами свинца (II) // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 3. С. 109–113.

=====

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В. Константа Михаэлиса  
для биохимической индикации качества вод в природных водных объектах Московской области

.....  
*Электронный научно-производственный журнал*  
**«АгроЭкоИнфо»**

=====

**Цитирование:**

Поликарпова Л.В., Дроганова Т.С., Петренко Д.Б., Васильев Н.В.  
Константа Михаэлиса для биохимической индикации качества вод в природных водных  
объектах Московской области// АгроЭкоИнфо. – 2020, №3. –  
[http://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2020/3/st\\_310.pdf](http://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2020/3/st_310.pdf)