

N.M. Shurova

Odesa Branch A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas NAS of Ukraine

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC FACTORS ON THE STRUCTURAL-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF POPULATION OF THE BLACK SEA MUSSELS

Influence of anthropogenic factors on the Black Sea mussels was examined. Moderate eutrophication is increasing of feed base for shellfishes, which aids in increasing of the growth rate and abundance of the mussel. High eutrophication – is increasing mortality rate of mussels. Differences in adaptation of the genetic mussel types give evidence on physiological diversity of the Black Sea mussels.

Key words: anthropogenic factors, structural-functional organization, mussel, Black Sea

УДК 594.124:591.134. 2:612.391

С.А. ЩЕРБАНЬ

Институт биологии южных морей НАН Украины
пр-т Нахимова, 2, Севастополь 99011

ТКАНЕВЫЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА У ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANADARA INAEQUIVALVIS* (BRUGUIERE) В УСЛОВИЯХ НОРМЫ И ПРИ ДЕФИЦИТЕ ПИЩИ

Представлены результаты сравнительных исследований уровня белкового синтеза в жабрах, гепатопанкреасе, мантии и ноге разных размерно-возрастных групп моллюска *Anadara inaequivalvis* Br. (условия нормы) и при дефиците пищи. Показано, что процессы белкового синтеза имели выраженную тканевую специфику, различия уровня синтеза отмечены только для ткани мантии. При недостатке пищи процессы биосинтеза в тканях анадары характеризовались разнонаправленностью. Так, в жабрах отсутствовала тенденция к повышению, либо снижению уровня биосинтеза, уровень синтеза в тканевых структурах ноги снижался в 1,3 раза.

Ключевые слова: Anadara inaequivalvis, белковый синтез, тканевые особенности, сум. РНК, индекс РНК/ДНК, дефицит пищи

Двустворчатый моллюск *Anadara inaequivalvis* Bruguiere (сем. Arcidae L.) был обнаружен в Черном и Азовском морях в 80-е годы прошлого столетия и рассматривался как вид-вселенец [2, 5]. Обладая высокой толерантностью к таким факторам как температура и солёность, а также выдерживая широкий диапазон содержания кислорода в среде, расселился преимущественно на глубинах от 7 м до 25 м [2, 5, 9]. В настоящее время имеет место массовое оседание личинок на субстраты и коллекторные установки мидийных и устричных ферм. Несмотря на явное доминирование в некоторых экосистемах Черного моря, не вызывал к себе интереса в силу того, что не являлся промысловым видом.

Вопросы роста этого вида практически не изучены, нет данных о скоростях роста и особенностях биосинтетической активности отдельных органов. Моллюск растет значительно медленнее других массовых двустворок Черного моря, таких как мидии и устрицы [3, 5, 9]. После оседания, за 2–2,5 года анадара может достигать лишь размеров 14–20 мм, в условиях аквариума значительно меньших [3], а средний размер раковины составляет 11–30 мм [2, 5]. В этой связи, актуальны исследования, направленные на выяснение эколого-физиологических аспектов роста, определения биохимических параметров белкового синтеза.

Цель настоящей работы заключалась в сравнительной оценке уровня белкового синтеза в тканях анадары разных размерно-возрастных групп (условия нормы) и при дефиците пищи.

Материал и методы исследований

Работа выполнена на взрослых особях *A. inaequivalvis* Bruguiere трех размерных диапазонов с длиной створок 14–17 мм, 17–22 и 22–27 мм, привезенных с коллекторных установок устричной фермы на мысе Кикинейз (пос. Качивели, ЮБ Крыма) весной 2008 года. Предположительный возраст их составил 2,5; 3,0 и 3,5 года. До момента препарирования тканей моллюсков выдерживали в аквариуме с проточной водой в течение 2-х суток для снятия стресса. Для постановки эксперимента на голодание отбирались моллюски со створкой 22–27 мм. Группа (10

экз.) содержалась в слабопроточном аквариуме, объемом 13,5 дм³, в воде, свободной от метаболитов и насыщенной кислородом ~7 мг/дм³ (условия, приближенные к естественным) при t воды=17–18°C и солености 18‰. Продолжительность экспозиции – 15 суток. В течение этого времени производили полную замену воды в емкостях для удаления метаболитов. Концентрацию кислорода контролировали потенциометрически с применением стандартных хлорсеребряных электродов.

В гепатопанкреасе, жабрах, ноге и мантии определяли содержание суммарных РНК и ДНК. Исследуемые показатели измерены спектрофотометрически (СФ-2) и определены по методу Спирина [4]. Результаты измерений выражали в мкг/мг сухой ткани. Статистическая обработка выполнена с применением стандартных пакетов Excel 97.

Результаты исследований и их обсуждение

Норма. Процессы биосинтеза белка, приводящие к наращиванию пластических ресурсов тканей, оценивались нами по содержанию суммарной РНК и значению индекса РНК/ДНК у 3-х размерно-возрастных групп моллюска. Анализ показал наличие тканевой специфики синтеза и выявил некоторые возрастные особенности, прежде всего в ткани мантии анадары (рис. 1).

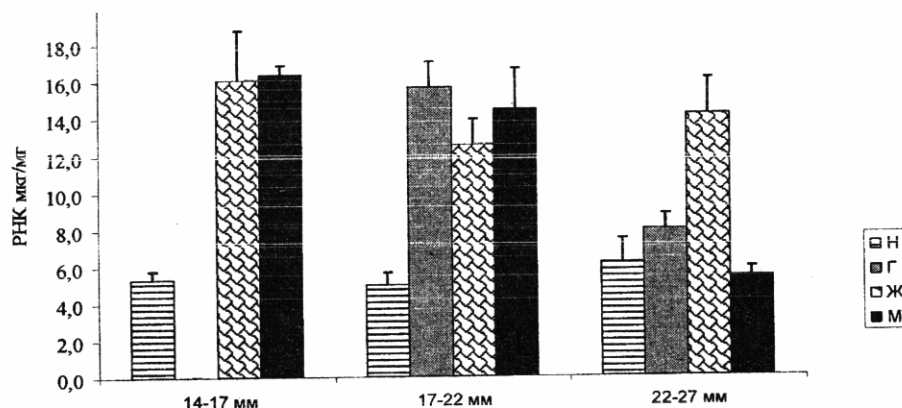


Рис. 1. Уровень синтетической активности тканей анадары в условиях нормы. Н – нога; Г – гепатопанкреас; Ж – жабры; М – мантия

Ткань жабр и мантии 2-х размерных диапазонов анадары (14–17 мм и 17–22 мм) отличались максимально высокими показателями суммарной РНК. Уровень белкового синтеза в жабрах был стабильно высоким у всех исследуемых групп: пределы значений 12,55–16,07 мкг/мг, без статистически достоверных различий ($p > 0,05$). Для сравнения, в жаберной ткани мидий, близких по возрастным характеристикам к группе 22–27 мм, уровень синтеза ниже в среднем в 4,5 раза [6]. Мантийная ткань имела размерно-возрастные отличия. Так, у группы с наибольшими размерами, уровень содержания сум. РНК достоверно ниже ($5,40 \pm 0,43$ мкг/мг, $p < 0,05$), чем у более мелких: $14,46 \pm 1,89$ мкг/мг и $16,23 \pm 0,45$ мкг/мг, что свидетельствует о более активных процессах белкового синтеза в данной ткани у мелкоразмерных, быстрорастущих моллюсков.

Содержание суммарной РНК в ноге у всех групп анадары было заметно низким, в диапазоне значений 4,99–6,16 мкг/мг, при этом не отмечено статистически значимых различий ($p > 0,05$). Результаты свидетельствуют также о том, что интенсивность синтеза в ткани ноги анадары ниже, чем в жабрах в 3,0 раза (группа 14–17 мм); в 2,4 раза (группа 17–22 мм) и в 2,2 раза (группа 22–27 мм); чем в гепатопанкреасе – в среднем в 2,2 раза.

Ткань гепатопанкреаса исследовалась у двух групп. Результаты показали, что содержание РНК у “средней” размерно-возрастной группы значительно выше, чем у более крупных моллюсков: $15,64 \pm 1,14$ мкг/мг и $7,81 \pm 0,71$ мкг/мг соответственно. Интенсивность синтетических процессов в гепатопанкреасе мидий оценивается величиной $4,20 \pm 0,5$ мкг/мг, что в 1,8 раза ниже, чем у скафарки [6].

Показателем анаболической активности может служить и рассчитанный индекс – РНК/ДНК. В литературе имеется достаточно данных о пригодности его в оценке скоростей процессов биосинтеза белка и регенерации тканей [6–8, 10]. Величины индекса приведены в таблице.

Значения индекса РНК/ДНК в тканях разноразмерных групп анадары

Ткани	Размерно-возрастная группа		
	L = 14–17 мм	L=17–22 мм	L=22–27 мм
Жабры	9,67	5,60	6,44
Мантия	8,12	6,94	3,93
Гепатопанкреас	–	3,75	2,72
Нога	4,90	4,84	4,34

Полученные значения подтверждают высокий уровень процесса в жабрах у всех групп и мантийной ткани более мелких моллюсков (индексы 8,12 и 6,94). Самые низкие значения получены для гепатопанкреаса – 2,72, а величины индекса для ткани ноги анадары отражают стабильный уровень биосинтеза. Таким образом, в естественных условиях существования, процессы белкового синтеза в тканях моллюска имели выраженную тканевую специфику.

Дефицит пищи. Для сравнения биосинтетических процессов использовались моллюски, с размером раковины 22–27 мм. Согласно полученным данным, после 15-ти суточной экспозиции, процессы биосинтеза в жабрах, гепатопанкреасе и ноге анадары протекали по-разному. В сравнении с моллюсками, находящимися в привычной среде, уровень белкового синтеза менялся незначительно.

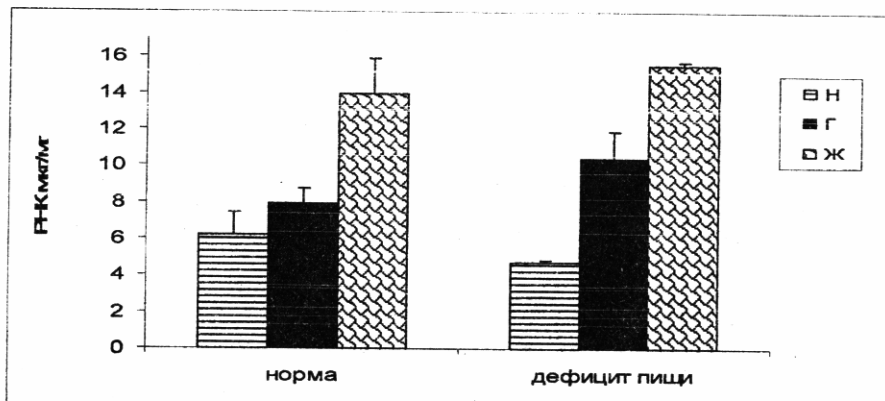


Рис. 2. Уровень анаболической активности тканей анадары в норме и при дефиците пищи. Н – нога; Г – гепатопанкреас; Ж – жабры

Жаберная ткань практически не реагировала на дефицит пищи: достоверных различий в содержании суммарной РНК не получено ($p > 0,05$). Анаболическая активность ткани ноги несколько снижалась (в 1,3 раза по величине сум. РНК) по сравнению с таковой у моллюсков в условиях нормы ($p < 0,05$). Дефицит пищи, даже незначительный, приводит к снижению пластических ресурсов (таких как аминокислоты и белки) тканей животных. Это отражается и на снижении индекса РНК/ДНК [6–8, 10]. Проведенные исследования активности ряда ферментов углеводного и белкового обмена, а также содержания белковых метаболитов в тканях анадары в условиях голода показали, в частности, что уровень белка в жабрах понижался в первые 6 дней голодания на 21%, а затем не претерпевал значимых различий [1]. По данным этих же авторов отмечено уменьшение содержания аминокислот как в жабрах, так и в ноге анадары.

Ткань гепатопанкреаса имела свою специфику. Сравнение величин сум. РНК и индекса РНК/ДНК у контрольных и опытных групп показало рост уровня сум. РНК с величины $7,81 \pm 0,71$ мкг/мг до $9,60 \pm 0,90$ мкг/мг, а индекса РНК/ДНК с 2,72 до 10,4. Специфичность реакции гепатопанкреаса подтверждена и рядом других показателей, прямо и косвенно связанных с направленностью процессов биосинтеза. В частности, снижался АК пул и увеличивалось содержание белка, в среднем на 30% [1]. Как оказалось, процесс адаптации анадары к голоду шел по пути активного использования резерва аминокислот печени, о чем по данным авторов [1], свидетельствовали величины активностей аминотрансфераз и резкое повышение в этом органе активности одного из лизосомальных ферментов – катепсина-D, в 3,5 раза. Объяснить высокое, по сравнению с контрольной группой, содержание белка в данном органе сложно. Вполне возможно, что в силу адаптивных возможностей ткань данного органа стремится к сохранению своего белкового резерва, активизируя уровень процессов синтеза.

Таким образом, недостаток пищи не являлся агрессивным стресс-фактором для процессов биосинтеза в тканях анадары. Наиболее чувствительной оказалась лишь ткань ноги, так как ее анаболическая активность снижалась в 1,3 раза по сравнению с уровнем в ткани моллюсков, находящихся в условиях нормы.

Выводы

1. Ткани разноразмерных групп анадары характеризуются следующими особенностями: а) жаберным структурам свойственна высокая анаболическая активность, уровень которой у всех групп приблизительно одинаков; б) синтетическая активность мантии 2-х размерно-возрастных групп (14–17 и 17–22 мм) выше в среднем в 2,7 раза, чем у более крупных моллюсков (22–27 мм); в) тканевые структуры ноги наиболее инертны; г) интенсивность синтеза ниже, чем в жабрах в 3,0 раза (у мелких); в 2,4 раза (у средних) и в 2,2 раза (у крупных), чем в гепатопанкреасе – в среднем в 2,2 раза.
2. В гепатопанкреасе, жабрах и ноге моллюска в условиях дефицита пищи процессы белкового синтеза протекали разнонаправленно: а) в жаберной ткани не отмечалась тенденция к повышению, либо к снижению уровня белкового синтеза; б) в гепатопанкреасе, при этих же условиях, уровень синтеза возрастал в 1,3 раза, что указывает на адаптивные возможности и сохранение белкового резерва ткани; в) анаболическая активность ткани ноги несколько снижена (в 1,3 раза) по сравнению с ее уровнем в тканях моллюсков, находящихся в условиях нормы.

1. Андреев Т.И. Особенности реорганизации тканевого метаболизма у двусторчатого моллюска *Anadara inaequivalvis* (Brugiere, 1789) в условиях экспериментального голодания / Т.И. Андреев, А.А. Солдатов, И.В. Головина // Мор. экол. журн. – 2009. – Т. VIII, № 3. – С. 15–24.
2. Золотарев В.Н. Двусторчатый моллюск *Sinearsa cornea* – новый элемент фауны Черного моря / В.Н. Золотарев // ДАН СССР. – 1987. – Т. 297. – С. 501–502.
3. Ревков Н.В. Разнообразие зообентоса рыхлых грунтов в прибрежной зоне Крымского побережья Черного моря / Н.В. Ревков, Н.А. Болтачева, Т.В. Николаенко, Е.А. Колесникова // Океанология. – 2002. – Т. 42, № 4. – С. 561–571.
4. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот / А.С. Спирин // Биохимия. – 1958. – Т. 23, № 5. – С. 656–662.
5. Стадниченко С.В. Популяционная структура морских двусторчатых моллюсков в районе дельты Дуная в 2007–2008 гг. / С.В. Стадниченко, В.Н. Золотарев // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. – Вып. 20. – С. 248–261.
6. Щербань С.А. Влияние краткосрочной гипоксии на некоторые ростовые показатели черноморской мидии в условиях дефицита пищи / Щербань С.А., Вялова О.Ю. // Экология моря. – 2001. – Вып. 58. – С. 57–60.
7. Bowen K.L. RNA/DNA and protein Indices in Evaluating Growth and Condition of Aquatic Organisms: A Review / K.L. Bowen, O.E. Johannsson, R. Smith, C. Schlechtriem // Ann. Conf. Great Lakes Res. – 2005. – Vol. 48. – P. 34–39.
8. Gao L. Effect of starvation and compensatory growth on feeding, growth and body biochemical composition in *Acipenser schrenckii* juveniles / L. Gao, L. Chen, B. Song // L. Fish. China. – 2004. – Vol. 28, N 3. – P. 279–284.
9. Gomoiu M.T. *Scapharca inaequivalvis* (Brugiere), a new species in the Black Sea / M.T. Gomoiu // Cercet. Mar. Rech. Mar. – 1984. – N 17. – P. 131–141.
10. Rooker J.R. Application of RNA: DNA ratios to evaluate the condition and growth of larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) / J.R. Rooker, G.J. Holt // Mar. Freshwat. Res. – 1996. – Vol. 47, N 2. – P. 12–18.

С.А. Щербань

Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь

ТКАНИННІ ОСОБЛИВОСТІ БІЛКОВОГО СИНТЕЗУ У ДВОСТУЛКОВОГО МОЛЮСКА *ANADARA INAEQUIVALVIS* (BRUGIERE) В НОРМІ І ЗА ДЕФІЦИТУ ЇЖІ

Представлені результати порівняльних досліджень рівня синтезу в жабрах, гепатопанкреасі, мантиї і нозі різних розмірно-вікових груп моллюска *Anadara inaequivalvis* Br. (норма) та за дефіциту їжі. Показано, що білковий синтез має виражену тканинну специфіку, відмінності рівня синтезу відмічені лише для тканини мантиї. При дефіциті їжі біосинтез білків в тканинах анадары характеризувався різноспрямованістю. Так, у жабрах відсутня тенденція до підвищення або зниження рівня біосинтезу; рівень синтезу в тканинних структурах ноги знижувався в 1,3 рази.

Ключові слова: *Anadara inaequivalvis*, білковий синтез, тканинні особливості, сумарна РНК, індекс РНК/ДНК, дефіцит їжі

S.A. Shcherban'

Institute of Biology of the Southern Seas of NAS of Ukraine, Sevastopol

TISSUE FEATURES OF PROTEIN SYNTHESIS FOR BIVALVE *ANADARA INAEGUIVALVIS* (BRUGUIERE) IN THE CONDITIONS OF NORM AND AT DEFICIT OF FOOD

Results of the comparative investigation of protein synthesis levels in gills, hepatopancreas, legs and somatic tissues of different age-size groups of mussels *Anadara inaequalis* Br. (normal condition) and under nutrition stress are present. It was shown the protein synthesis process have the expressed tissue peculiarity, differences of synthesis levels were observed for somatic tissues only. Biosynthesis process in *Anadara* tissues were characterised by different directions under the nutrition stress. Thus, the tendency of biosynthesis levels increase or decrease in gills was absent; the synthesis level in legs tissues in 1,3 times decreased.

Key words: *Anadara inaequalis*, protein synthesis, tissue features, RNK, index RNK/DNA, deficit food

УДК [576.89:597][262.5]

В.М. ЮРАХНО

Институт биологии южных морей НАН Украины
пр-т Нахимова, 2, Севастополь 99011

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ МИКСОСПОРИДИЙ В ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБАХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ДВУХ РЕЙСОВ 1988 г.

Впервые изучена встречаемость миксоспоридий Чёрного моря в открытых водах на шельфе бывшего СССР и проведено сравнение зараженности рыб миксоспоридиями в разных районах моря, отличающихся гидрологическим и гидрохимическим режимом.

Ключевые слова: миксоспоридии, рыбы, Чёрное море

До настоящего исследования все сборы миксоспоридий рыб Чёрного моря проводились с суши и недалеко от берега. В статье представлены результаты изучения встречаемости миксоспоридий в открытом море на шельфе бывшего Украины, России и Грузии. Проведено сравнение зараженности рыб слизистыми споровиками в разных районах моря, отличающихся гидрологическим и гидрохимическим режимом.

Материал и методы исследований

Сбор паразитологического материала из рыб Чёрного моря проведен в марте и в июне-июле 1988 г. на СРТМах ЮгНИРО «Поисковик» и «Железный поток». В марте исследовали исключительно побережье Кавказа, в летние месяцы помимо кавказского побережья – фауну у берегов Крыма, Керченского пролива и северо-западной части моря. Лов рыбы производился донными травами на глубинах 15–115 м. Рыб изучали методом неполного паразитологического вскрытия на предмет обнаружения миксоспоридий. Всего было исследовано 306 экз. рыб 26 видов. Найдено 9 видов миксоспоридий в 7 видах хозяев в первом рейсе. Также изучено 488 экз. рыб 16 видов и найдено 8 видов миксоспоридий в 6 видах хозяев во втором рейсе.

Постоянные желатин-глицериновые препараты из найденных микропаразитов изготавливались по общепринятой методике и исследовались на микроскопе МБИ-1 при увеличении $\times 1350$, рисунки выполнены с помощью рисовального аппарата РА-4.

Результаты исследований и их обсуждение

Впервые получены сведения о встречаемости миксоспоридий в зоне открытого моря на обширной акватории от северо-западной до восточной его части. У берегов Кавказа было найдено 9 видов миксоспоридий от 7 видов рыб, в Керченском проливе – 3 вида *Muxosporaea* от 2 видов хозяев, у берегов Крыма – 5 видов указанных микропаразитов от 4 видов рыб, в северо-западной части моря – 7 видов миксоспоридий от 4 видов рыб (табл. 1, 2).