

dimensional frame were carried out. The size of total concentration changed from 14 up to 353 ng/l. Within one year two basic peaks of development ATP of a microplankton were marked: spring (May), basically for score of a microfraction, and autumn (September, October) with predominance nanofraction. The features of seasonal changes ATP for separate fractions, some common tendencies of seasonal successions in various points of the Sevastopol Bay are revealed.

УДК 593.7: 577.1:591.3

О. А. ШАХМАТОВА

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ФОСФОРНОГО ОБМЕНА ГИДРОИДА *OBELIA LOVENI*

Изучали влияние гипоксии на активность ферментов фосфорного обмена черноморского гидроида *Obelia loveni*. Диапазон изменения фермента АТФ-азы находился в пределах 4 - 25 мкг Р/(г ткани×мин). Активность кислой фосфатазы составляла 4 - 15 мкг Р/(г ткани×мин), щелочной фосфатазы - 0,26 - 0,56 мкг Р/(г ткани×мин). В условиях гипоксии активность АТФ-азы экспоненциально убывала с увеличением возраста колоний гидроида, активность кислой фосфатазы возрастала, снижаясь лишь на стадии размножения. Щелочная фосфатаза проявляла низкую активность, которая в условиях недостатка кислорода практически не менялась.

Содержание кислорода в морской воде является важной естественной экологической характеристикой, существенно влияющей на фосфорный метаболизм морских животных. Особый интерес в этом плане представляют ферменты фосфорного обмена - щелочная и кислая фосфатазы и АТФ-аза (общая, К, Na, Mg-зависимая). Это - ферменты широкого спектра действия, участвующие в углеводном, липидном, нуклеотидном обменах, поэтому изменение их активности может служить показателем нарушения любого из этих звеньев метаболизма [2].

Цель нашей работы - изучить влияние гипоксии на активность ферментов фосфорного метаболизма гидроида *Obelia loveni* на различных стадиях развития.

Материал и методы. Колонии гидроида *Obelia loveni* выращивали на стеклянных пластинах размером 5×10 см в кутовой части Севастопольской бухты на глубине 1,5 - 2 м. Пластины регулярно извлекали и помещали в литровые сосуды с морской водой на 2 и 20 ч. Сроки испытаний были обусловлены возрастными стадиями животных. Первый эксперимент был проведен с молодыми гидроидами в возрасте 2 недель. Затем были исследованы животные на стадии созревания генеративной ткани и вымета медузоидного поколения (возраст 1,5 мес), на стадии зрелости животных - 2,5 мес и на последней фазе развития, характеризующейся редукцией колоний, - 3 - 3,5 мес.

Время экспозиции пластин выбирали с учетом физиологического состояния животных. Первая временная характеристика (2 ч) отражает уровень аэробного метаболизма, когда содержание кислорода в экспериментальной среде уменьшается не более чем на 30 %. Содержание кислорода в среде с животными при этой экспозиции колебалось в пределах 6,75 - 4,15 мл/л и было условно принято за норму. Вторая временная характеристика (20 ч) моделирует условия гипоксии, когда содержание кислорода в исследуемых сосудах снижалось до уровня 1,64 мл/л. По [6] предельный уровень содержания кислорода в морской воде, необходимый для выживания видов, - 2 - 3 мг/л, что соответствует 1,4 - 2,1 мл/л.

Регистрировали биомассу колоний животных, потребление кислорода. Ткани гидроида растирали на холоду с физраствором. Активность ферментов определяли по изменению содержания фосфора: кислой и щелочной фосфатаз - по [1], АТФ-азы - по [3], определение содержания кислорода проводили по [4], тканевого белка - по [8]. Эксперимент повторяли трижды для каждого возраста животных, количество параллельных проб - от 4 до 7. Результаты представлены доверительным интервалом среднего значения $M \pm m$.

Результаты и обсуждение. Развитие колоний гидроида внешне характеризовалось изменением сырой биомассы. Ее увеличение достигало пределов величины ~ 4 г у животных в возрасте 2,5 мес. Стадии редукции колонии соответствуют низкие значения биомассы (рис.1)

Потребление кислорода колонией гидроида при экспозиции 20 ч находилось в противофазе с ростом биомассы и достигало максимальных значений у взрослых животных в возрасте 2,5 мес. (рис.1, 2).



Рисунок 1 Изменение биомассы в динамике популяции гидроида

Figure 1 Biomass exchange in hydroid's population.

При изучении активности ферментов фосфорного обмена гидроида было обнаружено, что уровень активности фермента АТФ-азы изменялся в пределах 4 - 25 мкг Р/(г ткани мин)) и был максимален у взрослых особей в возрасте 2,5 мес (табл.). Усиление работы АТФ-азы свидетельствует о метаболической активности организма [5].

Вероятно, животные в возрасте 2,5 мес. характеризуются наивысшей метаболической активностью, оптимальным энергетическим состоянием. Наиболее

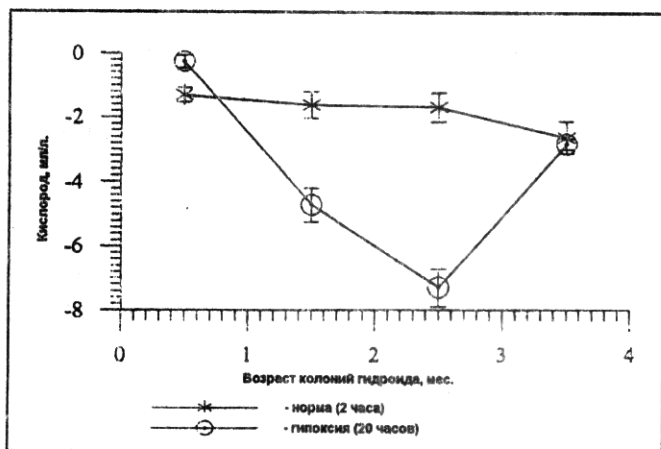
Таблица Активность ферментов фосфорного обмена в тканях гидроида
Table Phosphorus metabolism enzymes activity in hydroid tissue

Возраст животных, мес	Активность ферментов, мкг Р/(мг белка×мин) М±м					
	АТФ-аза		Щелочная фосфатаза		Кислая фосфатаза	
	2 ч	20 ч	2 ч	20 ч	2 ч	20 ч
0.5	8.84±0.68	9.01±0.35	0.42±0.03	0.41±0.02	8.6±0.2	9.06±0.67
1.5	11.61±0.7	7.92±0.12	0.56±0.13	0.49±0.08	9.28±0.34	7.45±0.13
2.5	25.01±1.24	6.89±0.81	0.4±0.01	0.39±0.01	11.3±0.29	14.88±0.09
3.5	4.42±0.2	5.7±0.2	0.26±0.02	0.28±0.01	4.65±0.12	6.14±0.04

Рисунок 2 Потребление кислорода популяцией гидроида в условиях нормы и гипоксии

Figure 2 Oxygen consumption of hydroid's population in condition of norma and hypoxia.

низкие значения активности АТФ-азы проявляет на стадии редукции колоний. Вероятно, это связано с затуханием метаболических процессов и уменьшением синтеза АТФ на этой возрастной стадии. Аналогично, хотя и в более узком диапазоне (4 - 15 мкг Р/(г тканей×мин)) изменялась активность кислой фосфатазы. Некоторое увеличение ее активности наблюдали на последних фазах развития. Щелочная фосфатаза проявляла низкую активность, изменяясь в пределах 0,26 - 0,56 мкг Р/(г тканей×мин), ее величина несколько увеличивалась на стадии размножения, затем уменьшалась с увеличением возраста организмов (табл.). 20-часовая экспозиция молодых двухнедельных колоний не выявила значительных изменений в активности исследуемых ферментов. И это естественно, так как фоновые характеристики содержания кислорода в среде с гидроидами этого возраста составляли 6,69 -



6,74 мл/л и находились в пределах условной нормы. Колонии в возрасте 1,5, 2,5 и 3,5 месяцев при экспозиции в течение 20 ч функционировали в гипоксических условиях: фоновые характеристики содержания кислорода в среде составляли 3,17 - 1,64 мл/л. В эти периоды развития колоний все исследуемые ферменты снижали свою активность. Отмечено лишь увеличение активности кислой фосфатазы у животных в возрасте 2,5 и 3,5 мес. Это объясняется, вероятно, выделением колонией кислых метаболитов, что создает благоприятную среду для работы кислой фосфатазы. Резкое снижение активности АТФ-азы при недостатке кислорода (~ в 4 раза) в возрасте 2,5 мес, вероятно, связано с уменьшением синтеза АТФ в условиях гипоксии [9], который является субстратом для АТФ-азы.

Выводы. Кривая зависимости активности ферментов АТФ-азы и кислой фосфатазы гидроида *Obelia loveni* от возраста колоний в нормальных условиях имеет колоколообразную форму и достигает максимальных значений в возрасте 2,5 мес., для которого характерна наивысшая метаболическая активность. Минимальные значения этих ферментов характерны для гидроида на стадии редукции колоний. В условиях гипоксии тканевая активность АТФ-азы экспоненциально убывала с увеличением возраста колоний гидроида, активность кислой фосфатазы возрастала, снижаясь лишь на стадии размножения. Щелочная фосфатаза проявляла низкую активность, которая в условиях недостатка кислорода практически не менялась.

1. Инструкция к набору реактивов для определения активности щелочной и кислой фосфатаз в сыворотке крови по методу Боданского. - 1968. - 7 с.
2. Ленинджер А. Основы биохимии. - М.: Мир, 1985. - 1022 с.
3. Мыслович В. О. Определение трифосфатазной активности клеток водорослей // Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: Наук. думка, 1975. - С. 162 - 165.
4. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: Наук. думка, 1975. - С. 48 - 51.
5. Эмеретли И.В. Активность ферментов энергетического обмена у черноморских рыб. //Биоэнергетика гидробионтов. - Киев: Наук. думка, 1990. - С. 178 - 187.
6. Howell P., Simpson D. Abundance of marine resources relation to dissolved oxygen in Long aaaaaislnd Sound.// Estuaries. - 1994. - 17, №2. - P. 394 - 402.
7. Jackson A.E., De Freitas A.S.W. et al. Phosphorus metabolism monitored by super (31)P NMR in juvenile sea scallop (*Placopecten magellanicus*) over wintering in pearl nets at a NOVA Scotian aquaculture site // Can J. Fish. Aquat. - 1994. - 51, №9. - P. 2105 - 2114.
8. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent.// J. Biol Chem. - 1951. - 193, 266. - P. 75.
9. Wijsman T.S.M. Adenosine phosphates and energy charge in different tissues of *Mytilus edulis* under aerobic and anaerobic conditions.// J. Comp.Physiol. - 1976. - 107, №1. - P. 129 - 140.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г. Севастополь

Получено 25.09.2000
После переработки 10.02.2001

O. A. SHAKHMATOVA

THE INFLUENCE OF HIPOXIA ON THE ACTIVITY OF PHOSPHORUS METABOLISM ENZYMES OF HYDROID, *OBELIA LOVENI*

Summary

The influence of hypoxia on the activity of phosphorus metabolism enzymes of hydroid, *Obelia loveni* during the ontogenesis has been observed. ATP-ase activity was exchange 4 - 25 mkg P/ (g tissue×min), it was the most high enzymes activity. Acid phosphatase activity was- 4 - 15 mkg P/ (g tissue×min), alkaline phosphatase activity was 0,26 - 0,56 mkg P/ (g tissue×min). Under the hypoxia the conditions ATP-ase activity exponentially decreased with growth of hydroid's population. Acis phosphatase activity was increased and then it was decreased on the reproduction stages. Alkaline phosphatase activity practically didn't change in oxygen deficiency conditions.