

УДК 594.1: 577.121

Т.И. АНДРЕЕНКО

Севастопольский национальный технический университет
ул. Университетская, 33, Севастополь 99053

НАПРАВЛЕННОСТЬ АДАПТИВНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В ТКАНЕВЫХ СТРУКТУРАХ МОЛЛЮСКА-ВСЕЛЕНЦА *ANADARA INAEQUIVALVIS* В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНОКСИИ И ГОЛОДАНИЯ

Установлено, что в условиях экспериментальной аноксии происходит усиление катаболизма белков в жабрах и гепатопанкреасе моллюска. Процесс адаптации анадары к голоданию идет по пути использования резерва аминокислот в процессах биосинтеза белка. Донором аминокислот выступает гепатопанкреас. Голодание вызывает у моллюсков принципиально иную реорганизацию белкового метаболизма, чем в условиях аноксии.

Ключевые слова: голодание, аноксия, белковый метаболизм, моллюск

Anadara inaequalis – достаточно молодой для Черного моря вид-вселенец, который постепенно становится массовой ценообразующей формой, колонизируя экстремальные биотопы. В связи с этим важной задачей является определить функциональные основы инвазии и экологической пластичности вида. Кроме того, *Anadara inaequalis* рассматривается как перспективный объект марикультуры для Черного моря, поэтому знание особенностей метаболизма этого вида имеет особое значение для разработки биотехники для его массового выращивания.

Цель настоящего исследования провести сравнительную оценку направленности реорганизации белкового обмена в тканях двусторчатого моллюска *Anadara inaequalis* в условиях аноксии и голодания.

Материал и методы исследований

Материал получен одномоментно с коллекторных установок рыбодобывающего предприятия “Дон-Комп” (бухта Стрелецкая, Севастополь). В работе использовали половозрелые особи *Anadara inaequalis* (далее анадара) (длина раковины 30-33 мм). Препарирование тканей (нога, жабры и гепатопанкреас) проводили при температуре 4°C. Для моделирования внешней аноксии содержание кислорода в воде снижали до 0 мг/дм³, прокачиванием N₂. Контроль за величиной PO₂ осуществляли потенциометрически. Контрольная группа моллюсков содержалась в аналогичных условиях при концентрации кислорода в воде 8,5-8,7 мг/дм³ (95-97 % насыщения). Экспозиция составляла трое суток.

Для моделирования состояния голода морскую воду доставляли из 10-мильной зоны, стерилизовали в течение 4 ч и удаляли питательные субстраты. Экспозиции – 18 сут. Пробы тканей отбирали на 1-е, 6-е и 18-е сутки эксперимента. В условиях экспериментальной аноксии и голодания температура воды в емкостях составляла 18±1°C, соленость – 17-18‰, ежедневно производили полную смену воды для удаления метаболитов. Фотопериод – 12 ч день:12 ч ночь.

В тканях моллюсков определяли активности АлАТ, АсАТ унифицированным динитрофенилгидразиновым методом Райтмана-Френкеля [4], γ-глутамилтранспептидазы (ГТП) – по количеству высвобожденного п-нитроанилина [5], катепсина D – по кислоторастворимым продуктам ферментативного гидролиза гемоглобина [2]. Содержание мочевины в тканях моллюсков определяли по реакции с диацетилмоноксимом [1], свободного аминного азота – по цветной реакции с нингидрином [1], белка – по методу Лоури [7].

Результаты исследований и их обсуждение

Аноксия вызвала уменьшение содержания белка во всех исследованных тканях моллюска на 15-30% (p<0,05) (табл. 1). Пул свободных аминокислот при этом повышался на 35-50% (p<0,01). В ноге и жабрах анадары отмечали значительный рост содержания мочевины 45-100% (p<0,05). Это позволяет констатировать усиление катаболизма белков в тканях моллюска в условиях внешней аноксии.

Активность катепсина D в условиях эксперимента либо не изменялась (нога), либо претерпевала существенное понижение (жабры, гепатопанкреас). Это происходило на фоне возрастания активности γ-ГТП на 35-70% (p<0,05). Из этого следует, что в тканях анадары при

внешней аноксии гидролизу подвергаются не цельные белки, а олигопептиды с которыми взаимодействует γ -ГТП, освобождая глутамат используемый в сукцинаттиокиназной реакции, о реализации которой в тканях анадары свидетельствовал возрастание активности АЛАТ на 30-60% ($p < 0,05$) в ноге и жабрах моллюска (табл.1). Она позволяет получать дополнительный ресурс макроэргов и исключает накопление токсичного лактата.

Таблица 1

Содержание белков, аминокислот и мочевины в тканях анадары в условиях нормоксии и аноксии

Показатели	Органы					
	нога		жабры		гепатопанкреас	
	нормоксия	аноксия	нормоксия	аноксия	нормоксия	аноксия
Белки, мкг мг ⁻¹ ткани	38,7±1,2	28,4±2,4	46,9±4,0	35,9±3,0	143,5±12,5	116,4±3,9
Аминокислоты, нг мг ⁻¹ ткани	68,5±3,1·10 ⁻³	92,7±5,0	192,6±13,3	282,3±11,5	285,1±19,5	423,8±37,9
Мочевина, нм мг ⁻¹ ткани	2,68±0,24	3,85±0,3	11,8±4,2	25,0±2,5	28,4±2,3	15,7±3,5
АЛАТ, мкмоль мг ⁻¹ белка мин ⁻¹	0,28±0,01	0,38±0,03	0,18±0,02	0,29±0,01	0,19±0,007	0,13±0,003
АсАТ, мкмоль мг ⁻¹ белка мин ⁻¹	0,09±0,007	0,12±0,008	0,096±0,009	0,14±0,009	0,1±0,007	0,07±0,009
γ -ГТП, нмоль мг ⁻¹ белка мин ⁻¹	2,0±0,2	2,0±0,1	5,0±0,8	8,0±0,4	3,0±0,8	6,0±0,1

Примечание: объемы выборочных совокупностей – 10 особей.

В условиях аноксии зарегистрировано также повышение активности АсАТ в жабрах и ноге моллюска на 25-45% ($p < 0,05$).

Голодание приводило к увеличению содержания белков в тканях ноги и гепатопанкреаса, а в жабрах, наоборот – к снижению. Это происходило на фоне уменьшения уровня свободных аминокислот и подавления активности γ -ГТП во всех исследуемых тканях (табл. 2).

Таблица 2.

Содержание белков, аминокислот, мочевины, активности γ -ГТП и катепсина D в тканях анадары в условиях голодания

Условия эксперимента	n	Показатели				
		Белок, мкг·мг ⁻¹	Аминокислоты мкг·мг ⁻¹	Мочевина, нмоль·мг ⁻¹ ткани	γ-ГТП, нмоль·мг ⁻¹ белка мин ⁻¹	Катепсин D, нмоль·мг ⁻¹ белка мин ⁻¹
Гепатопанкреас						
Контроль	20	102,5±2,0	0,598±0,02	35,6±3,4	5,64±0,20	1,777±0,19
Голодание 6 суток	10	143,5±12,5	0,285±0,02	28,4±2,3	3,77±0,81	2,675±0,29
Голодание 18 суток	8	142,7±9,8	0,353±0,06	26,1±4,0	3,95±1,32	6,212±1,23
Жабры						
Контроль	20	59,5±2,0	0,378±0,01	7,81±1,1	5,55±0,37	6,896±0,54
Голодание 6 суток	10	46,9±4,0	0,193±0,01	11,8±4,1	5,11±0,86	6,635±0,55
Голодание 18 суток	8	47,2±2,8	0,199±0,02	10,3±2,8	5,76±1,00	6,249±0,30
Нога						
Контроль	20	31,9±1,0	0,102±0,003	2,65±0,4	2,93±0,20	3,196±0,24
Голодание 6 суток	10	38,7±1,2	0,068±0,003	2,68±0,2	2,061±0,2	3,36±0,316
Голодание 18 суток	8	42,3±0,4	0,089±0,007	2,66±0,4	2,623±0,7	3,87±0,699

Примечание: n – объемы выборочных совокупностей.

Увеличение белковых ресурсов в тканях гидробионтов на начальных этапах голодания отмечают и другие авторы [3]. В ответ на действие стрессорных факторов концентрация в плазме белков, которые еще называют белками острой фазы, увеличивается и, следовательно, их синтез является составной частью метаболического ответа на стресс [3].

Необходимо отметить, что процесс адаптации моллюска к голоданию, по-видимому, шел и по пути активного использования аминокислот, как потенциального источника энергии. Содержание аминного азота во всех исследованных органах понижалось. При этом содержание мочевины в тканях не изменялось, а в некоторых случаях уменьшалось (гепатопанкреас). Это означает, что снижение тканевого пула аминокислот не было связано с процессами деаминации. Донором аминокислот, вероятно, выступает гепатопанкреас, так как только в этом органе отмечался существенный рост активности катепсина D.

Таблица 3

Сравнительная оценка особенностей реорганизации тканевого метаболизма у анадары в условиях экспериментальной аноксии и голода

Показатели	Органы и условия эксперимента					
	гепатопанкреас		жабры		нога	
	аноксия	голод	аноксия	голод	аноксия	голод
Белки	–	+	–	–	–	+
Аминокислоты	+	–	+	–	+	–
Мочевина	–	–	+	*	+	*
АлАТ	–	*	+	*	+	+
АсАТ	–	+	+	*	+	–
γ-ГТП	+	–	+	*	+	–
γ-ГТП	+	–	+	*	+	–

Примечания: «+» – увеличение содержания (активности); «–» – уменьшение содержания (активности); «*» – отсутствие изменений.

Возрастание активностей АлАТ и АсАТ в условиях экспериментального голодания направлено на продукцию субстратов, усваиваемых в гликолитических процессах. Динамика содержания субстратов (белок, аминокислоты), метаболитов (мочевина) и активностей ферментов (АлАТ, АсАТ, γ-ГТП, катепсин D) в условиях экспериментального голодания и аноксии в большинстве случаев была разнонаправленной (табл. 3). Это означает, что стоящие за ними процессы качественно отличаются друг от друга, протекают самостоятельно и не оказывают существенного взаимного влияния.

Необходимо также подчеркнуть, что процессы, стоящие за реорганизацией тканевого метаболизма в условиях аноксии и голодания, не совпадают во времени. В условиях аноксии они были зарегистрированы в течение первых 3 сут. от начала эксперимента, а при голодании отмечались только на 18-е сутки.

Выводы

Вышесказанное позволяет заключить, что депривация пищи вызывает у моллюсков принципиально иную реорганизацию белкового метаболизма в тканевых структурах, чем в условиях внешней аноксии.

1. Колб В.Г. Клиническая биохимия: пособие для врачей-лаборантов / Колб В.Г., Камышников В.С.. – Минск: Изд-во Беларусь, 1976. – С. 59–62.
2. Комаров Ф.И. Биохимические исследования в клинике / Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коровкин, В.В. Меньшиков. – Л.: Изд-во Медицина, 1976. – С. 76–77.
3. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф.З. Меерсон. – М.: Наука, 1981. – 278 с.
4. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: [Справочник] / В.В. Меньшиков [и др.]. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
5. Dimov D.M. Comparison of four methods for the estimation of γ-glutamyl transpeptidase activity in biological fluids / Dimov D.M., Kulhanek V. // Clin. Chim. Acta. – 1967. – N 16. – С. 271–277.
6. Larade K. Reversible suppression of protein synthesis in concert with polysome disaggregation during anoxia exposure in *Littorina littorea* / K. Larade, K.B. Storey // Mol. Cell. Biochem. – 2002. – Vol. 232, N 1–2. – P. 121–127.
7. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 266. – P. 75.

Т.І. Андрєєнко

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь

**СПРЯМОВАНІСТЬ АДАПТИВНОЇ РЕОРГАНІЗАЦІЇ БІЛКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ В
ТКАНИННИХ СТРУКТУРАХ МОЛЮСКА-ВСЕЛЕНЦЯ *ANADARA INAEQUIVALVIS* ЗА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ АНОКСІЇ І ГОЛОДУВАННЯ**

Встановлено, що за аноксії в зябрах і нозі *Anadara inaequivalvis* відбувається посилення катаболізму білків. Адаптація анадари до голодування здійснюється шляхом використання резерву амінокислот для біосинтезу білків. Донором амінокислот є гепатопанкреас. Голодування викликає у моллюсків принципово іншу реорганізацію білкового метаболізму в тканинних структурах, ніж за аноксії.

Ключові слова: голодування, аноксія, білковий метаболізм, моллюск

T.I. Andreenko

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

**THE ORIENTATION OF ADAPTIVE REORGANIZATION OF THE PROTEIN METABOLISM IN
THE TISSUES OF *ANADARA INAEQUIVALVIS* UNDER THE CONDITIONS OF
EXPERIMENTAL ANOXIA AND STARVATIONS**

It has been found that under experimental anoxia conditions the processes of protein catabolism are intensified in gills and digestive gland of mollusk. The low molecular peptides are predominantly hydrolyzed. The process of adaptation of anadara to starvation involves using the amino acids reserves for protein biosynthesis. Hepatopancreas seems to be a donor of amino acid. Starvation causes in molluscs essentially other reorganisation of a protein metabolism in tissues, than in the conditions of an experimental anoxia.

Key words: starvation, anoxia, mollusc

УДК 598.34:591.13

О.Г. АНТОНОВСЬКИЙ¹, В.О. ДЕМЧЕНКО², І.С. МИТЯЙ², П.Г. ШЕВЧЕНКО²

¹Таврійський державний агротехнологічний університет

пр-т Богдана Хмельницького, 18, Мелітополь 71315

²Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева, 19, Київ 03041

**МОЛОЧНИЙ ЛИМАН: РЕТРОСПЕКТИВА ТА ПЕРСПЕКТИВА
ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ**

Здійснено ретроспективний аналіз екологічного стану Молочного лиману Азовського моря за останні 100 років. Приведено динаміку гідрохімічного режиму, коливання видового складу та чисельності бентосних організмів і риб. Запропоновано рекомендації з відновлення життєвих процесів водойми.

Ключові слова: Молочний лиман, солоність води, бентос, іхтіофауна

В Північно-Західному Приазов'ї є більше ста солоних водойм, що значно змінюють розміри та солоність води протягом року [1]. До них належить і Молочний лиман, що утворився в четвертинний період в результаті епейрогенічного опускання побережжя, в результаті чого прилегла до моря нижня частина широкої долини річки Молочної була затоплена морськими водами. Наступне поступове обміління річки, загальна діяльність пануючих східних і південно-східних вітрів, морських течій та їх акумулятивної діяльності, в місці зчленування лиману з морем поступово почала наливатися піщано-черепашкова коса. Вона відокремила лиман від моря і перетворила його в озеро. Є підстави вважати, що це відбулося в кінці XV ст. [8]. З цього часу і майже до середини минулого століття лиман залишався мертвою водоймою з солоністю вод, що сягала таких значень (60–70 г/л), при яких могли мешкати лише ультрагалінні форми. З 1943 р. в результаті воєнних дій лиман був штучно з'єднаний з Азовським морем. Морська вода поступово опріснила озеро і життєві процеси в ньому відновились. Лиман отримав статус: водно-болотного