

БИОХИМИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ПЛАСТИЧЕСКОГО РОСТА У МАССОВЫХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ЧЕРНОГО МОРЯ

С. А. Щербань

Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, РФ, shcherbansa@yandex.ru

Представлены данные по биохимической индикации процессов пластического роста у массовых двустворчатых моллюсков Черного моря: *Mytilus galloprovincialis*, *Anadara kagoshimensis* и *Crassostrea gigas*. Анализируется использование основных индикаторных показателей (содержание сум.РНК и индекс РНК/ДНК) для характеристики процессов белкового синтеза у двустворчатых моллюсков в природных и экспериментальных условиях.

Ключевые слова: суммарные рибонуклеиновые кислоты (сум. РНК), расчетный индекс РНК/ДНК, биосинтез белка, скорость роста, двустворчатые моллюски

При изучении ростовых характеристик у животных, в том числе и у гидробионтов, применяются ряд методов, включающих морфометрические, физиологические и биохимические параметры. К биохимическим методам оценки относят содержание суммарных фракций РНК, ДНК, содержание белка и расчетный индекс РНК/ДНК. На стандартных гидробиологических объектах, таких как устрицы, голубая мидия, американские лещи, атлантические виды сельди и окуня, показано, что индекс РНК/ДНК чувствителен к смене пищевых уровней и может служить показателем “мгновенной” скорости белкового синтеза [1–4]. Многие авторы использовали этот индекс как в лабораторных экспериментах, так и при анализе популяционной динамики растущих в природе личинок, называя его индексом мощности синтеза протеина [4–7].

Цель работы – оценка основных биохимических параметров, применяемым для характеристики особенностей тканевого биосинтеза у двустворчатых моллюсков Черного моря – мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., анадары *Anadara kagoshimensis* Br. и гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg).

Оценка скорости роста молоди *C. gigas* (спат 2 мес., L= 6,5мм) проведена в условиях морской фермы (пос. Кацивели, Крым) [8]. С целью выявления наиболее быстрорастущих линий устриц разной плоидности проводили мониторинг ростовых биохимических параметров (сум.РНК, содержания белка и индекса РНК/ДНК), динамики сухого вещества у диплоидных (Д) и триплоидных (Т) линий спата в процессе роста в садках (5, 9, и 11 месяцев со дня посадки) (табл. 1).

Содержание сум. РНК у “Т” значительно выше, чем у “Д” уже через 5 мес. после посадки; через 9 мес. снижался темп роста молоди обеих линий. Исходя из значений, можно констатировать, что в первые 5 месяцев посадки интенсивность ростовых процессов у “Т” устриц достоверно выше, значительно выше и вплоть до достижения годовалого возраста. Процесс роста при этом характеризовался скачкообразностью. Таким образом, охарактеризована “мгновенная скорость” и онтогенетические особенности роста разных линий устриц на первых этапах искусственного выращивания.

Черноморская мидия – наиболее изученный вид двустворчатых [8–11]. Проведенные работы на генеративной ткани самцов и самок черной цветовой морфы на разных стадиях подготовки к нересту показали, что по мере созревания гонад содержание РНК возрастает от 1 до 4 стадии, с максимумом на 5 стадии (нерест) [8]. Так, содержание сум.РНК у самцов 3–4 преднерестовой стадии в 1.9 раза ниже, чем в гонадах особей, готовых к вымету; для самок эти различия составляли в 2.1 раза [12, 13] (табл. 2).

Табл. 1 Содержание РНК, сухой массы тканей и величины ростовых индексов у *Crassostrea gigas*

Сроки посадки	W, сух. m, мг		РНК, мкг/мг		РНК / ДНК		РНК / сух. m, мг	
	Д	Т	Д	Т	Д	Т	Д	Т
Спат	-	-	1.14	4.34	-	-	-	-
5 месяцев	45.5	36.4	2.08	4.99	12.2	16.9	0.04	0.14
9 месяцев	37.1	30.3	1.21	3.74	4.4	6.8	0.03	0.12
11 месяцев	53.6	55.1	2.86	7.06	14.6	19.3	0.05	0.13

Примечание: линейные размеры устриц линий Д (5 мес.) – 40-45 мм, 9 мес. – 60-65 мм, 11 мес. – 74-78 мм; линий Т (5 мес.) – 40-45 мм, 9 мес. – 58-62 мм, 11 мес. – 80-85 мм

Табл. 2 Содержание РНК (мкг. мг⁻¹ сухой массы) и значения индекса РНК/ДНК в гонадах мидий в весенне-летний период

Стадия зрелости гонад	Самки		Самцы	
	РНК	РНК-ДНК	РНК	РНК-ДНК
1	3.30 ± 0.15	-	3.90 ± 0.10	-
2	4.49 ± 0.17	-	4.49 ± 0.21	-
3-4	6.92 ± 0.70	15.4	7.94 ± 0.25	15.6
5	15.01 ± 1.27	10.7	15.60 ± 2.04	9.2
6	5.50 ± 0.30	15.7	6.10 ± 0.41	15.9

Полная характеристика особенностей генеративного синтеза у цветковых морф мидий, включая редкую, “альбиносную” морфу представлена в [12]. С высокой степенью достоверности определен фенотип депигментированной морфы с высоким уровнем репродуктивного синтеза. Более ранними исследованиями на популяциях *M. galloprovincialis* в бухтах Ласпи (район ЮБК) и Казачья (Севастополь) получены данные по ростовым характеристикам соматической ткани (мантийные лепестки) и гонад у разновозрастных групп. В результате проведенных на трех видах морф (черной, темно-коричневой и коричневой) исследований показаны различия в параметрах и выявлен фенотип черной морфы с максимальным темпом роста [9]. Установлено также, что общий тканевой гомогенат сеголеток мидий сравниваемых морф имеет те же фенотипические особенности, что и тканевые гомогенаты половозрелых моллюсков.

A. kagoshimensis – недавний вселенец и распространенный в черноморском бассейне вид. Особенности пластического роста природных популяций анадары вплоть до 2007 г. не исследовались. Исследованиями [10] на 3-х размерно-возрастных группах получены данные по специфике роста соматических органов моллюска. Предположительный их возраст - 2,5; 3 и 3,5 г. Отмечена высокая анаболическая активность в жабрах и мантии моллюска (табл. 3). Это особенно выражено у мелкоразмерных особей.

Табл. 3 Значения сум. РНК и индекса РНК/ДНК в тканях групп анадары

Ткани	Размерно-возрастные группы					
	14-17 мм		18-21 мм		22-27 мм	
	РНК	РНК/ДНК	РНК	РНК/ДНК	РНК	РНК/ДНК
Жабры	16.06	9.6	12.37	5.6	13.92	6.4
Мантия	16.32	8.1	14.46	6.9	5.41	3.9
Гепатопанкреас	-	-	15.64	3.7	7.80	3.7
Нога	5.31	4.9	4.99	4.8	6.12	4.3

У этих групп уровень РНК в жабрах, мантии и гепатопанкреасе самый высокий. С увеличением раз структурах ноги у всех групп протекали без отличий, о чем свидетельствуют как значения РНК (4.9–6.1) так и величины индекса РНК/ДНК (от 4.3 до 4.9). На данном виде изучена и тканевая специфика пластического роста в эксперименте при дефиците пищи и аноксии [14] (табл. 4). Данные свидетельствовали о разнонаправленности процессов тканевого синтеза.

Табл. 4 Содержание свободных нуклеотидов (СН), нуклеиновых кислот, аминокислотного пула (АК) и белка в тканях *A. inaequalis* в условиях аноксии

Условия опыта	СН, мкг мг ⁻¹	РНК, мкг мг ⁻¹	ДНК, мкг мг ⁻¹	РНК/ДНК	АК, нг мг ⁻¹	Белок, мкг мг ⁻¹
Жабры						
Нормоксия	1.95±0.18	15.5±1.9	0.8±0.06	19.3	199.0±25	47.2±2
Аноксия	0.57±0.05	9.0±1.2	1.4±0.10	6.4	337.1±29	38.0±4
Гепатопанкреас						
Нормоксия	1.51±0.09	10.4±1.5	1.0±0.10	10.4	353.0±65	142.1±9
Аноксия	0.97±0.04	9.6±0.9	1.2±0.30	8.0	435.5±39	112.0±8
Нога						
Нормоксия	0.80±0.09	4.7±0.1	1.1±0.10	4.2	88.6±6	42.0±3
Аноксия	1.25±0.13	7.2±0.4	0.9±0.11	8.0	108.1±5	30.8±5

Величина РНК/ДНК применяется также для оценки биосинтеза и регенерации тканей у моллюсков при воздействии неблагоприятных факторов [7, 15, 16, 11]. У черноморских мидий в условиях действия токсических соединений - ПХБ и ТДТМА величина индекса характеризовала уровень синтеза в тканях и процессы регенерации в жабрах. Установлено, что величина РНК/ДНК отражала угнетение регенерации в жабрах и свидетельствовала о наличии токсического эффекта: контрольные значения сум.РНК и РНК/ДНК в тканях мидий были значительно выше экспериментальных. Исключение составляли лишь гонады. Концентрация РНК и индекс РНК/ДНК в жабрах значительно превышали таковые в других тканях, что подтверждало высокую скорость регенерации жаберных структур [15, 11]. Наибольший токсический эффект ПХБ выявлен для жабр: его добавление в концентрации 0,6 мг/л приводило к снижению содержания в жабрах РНК (с 1.24 до 0.89 мкг мг⁻¹ сухого веса), индекс РНК/ДНК снижался в 2.3 раза. Реакция структур гепатопанкреаса и ноги была практически одинакова. В гонадах, напротив, активизировались ростовые процессы, как проявление одной из адаптационных стратегий, направленных на вывод токсинов из организма [15]. Введение в среду ТДТМА вызывало также снижение сум.РНК во всех соматических органах мидий (жабрах, ноге и гепатопанкреасе) в 1.4–1.5 раза. Одновременно отмечали снижение индекса РНК/ДНК, что отражало угнетение биосинтеза в данных органах [11].

Таким образом, главными аспектами приложения рассматриваемых показателей в гидробиологической практике могут быть: использование величины РНК/ДНК в качестве индикаторного индекса мгновенной скорости роста организмов на ювенильных и ранних стадиях развития; применение при характеристике особенностей пластического роста в разные периоды жизненных циклов; в оценке тканевых и онтогенетических особенностей этих процессов; применение величины РНК/ДНК в качестве индекса пищевого стресса; учет индикаторов роста в практике современных марихозяйств для прогнозирования благоприятных периодов сбора моллюсков (и других видов).

1. Hetzel E.W., Wright D.A. The use of RNA/DNA ratios as an indicator of nutritional stress in the american oyster, *Crassostrea virginica* // Estuaries. 1983. V. 6. N. 3. P. 259–265.
2. Wright D.A., Martin F.D. The effect of starvation on RNA:DNA ratios and growth of larval striped bass, *Morone saxatilis* // J. Fish. Biol. 1985. V. 27. P. 479–485.
3. Robinson S. M. C., Ware D. M. Ontogenetic development of growth rates in larval Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, measured with RNA:DNA ratios in the Strait of Georgia, British Columbia // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1988. Vol. 45, No. 8. P. 1422–1429.
4. Clemmesen C.M. The effect of food availability, age, or size on the RNA/DNA of individual herring larvae: laboratory calibration // Mar. Biol. 1994. V. 118, N. 3. P. 377–382.
5. Miglav I., Jobling M. Effect of feeding regime on food consumption, growth rates and tissue nucleic acids in juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus* with particular respect to compensatory growth // J. Fish. Biol. 1989. V. 34. P. 947–957.
6. Juinio M.A., Gobb J.S. Estimation of recent growth of field-caught postlarval american lobsters, *Homarus americanus*, from RNA:DNA ratios // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1994. V. 51, N. 2. P. 284–297.
7. Stillman H., Dahlhoff E.P., Somero G.N. Biochemical indicators of physiological state in the intertidal mussel *Mytilus californianus* // The Physiologist. 1996. V. 37. P. 921–929.
8. Вялова О.Ю., Бородин А.А., Щербань С.А. Первые результаты вселения и выращивания тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* различной плоидности в Черном море // Морские прибрежные экосистемы. Водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки: мат 3-й междунар. науч.-практ. конф. (Владивосток, 8–10.09.2008). Владивосток. 2008. С. 231–233.
9. Щербань С.А. Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветковых морф мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. 2000. Вып. 53. С. 77–81.
10. Щербань С.А. Тканевые особенности белкового синтеза у двустворчатого моллюска *Anadara inaequalis* (Bruguiere) в условиях нормы и при дефиците пищи // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Серія Біол. 2010. № 3 (44). С. 323–327.
11. Щербань С.А. Влияние тетрадецилтриметиламмоний бромида (ТДТМА) на белковый биосинтез тканей двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология водных беспозвоночных: мат. междунар. конф. (Борк, 30 окт. – 2 нояб. 2010 г.). Борк. 2010. С. 361–364.
12. Щербань С.А., Вялова О.Ю. Половые и фенотипические особенности содержания РНК в гонадах черноморских мидий // Допов. НАН України. 2008. № 2. С. 166–170.
13. Karavanceva N. B., Shcherban S. A. Content of nucleic acids in gonads, sperms and eggs of the mussel *Mytilus galloprovincialis* at natural condition and thermal stimulation // Hydrobiol. J. 2014. V. 50, i.6. 50. P. 47–52.
14. Shcherban S.A. Tissue peculiarities of the protein anabolism in bivalve mollusk *Anadara inaequalis* in norm, under food deficit and anoxia // Hydrobiol. J. 2012. V. 48. N. 2. P. 21–29.
15. Солдатов А.А., Бочко О.Ю., Головина И.В., Щербань С.А. 2005. Биохимические эффекты полихлорированных бифенилов на организм черноморского моллюска *Mytilus galloprovincialis* // Мор. экол. журн. Отд. вып. 1. С. 105–112.
16. Bowen K.L., Johannsson O.E., Smith R., Schlechtriem C. RNA/DNA and protein Indices in Evaluating Growth and Condition of Aquatic Organisms: A Review // Ann. Conf. Great Lakes Res. 2005. V. 48. P. 34–39.

BIOCHEMICAL INDICATION OF PLASTICAL GROWTH PROCESS OF MARINE BIVALVIA OF BLACK SEA

S. A. Shcherban

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, RAS, Sevastopol, RF, shcherbansa@yandex.ru

Review of data on biochemical indications of growth process of Black sea Bivalvia (*Mytilus galloprovincialis*, *Anadara kagoshimensis* и *Crassostrea gigas*) is presented. Using of the main indications parameters (total RNA content, RNA/DNA index) for assessed process of protein synthesis in Bivalvia mussels under natural conditions and in experiment is analyzed.

Key words: total RNA, RNA/DNA index, protein synthesis, growth rates, bivalve mussels