

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ЭЛЕМЕНТЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА НЕКОТОРЫХ ГИДРОБИОНТОВ – ОБРАСТАТЕЛЕЙ

Изучено влияние гипоксии на химический состав и элементы углеводного обмена гидроида *Obelia loveni*, ботриллуса *Botryllus schlosseri* и мшанки *Lepralia pallasiana*. Установлено, что при гипоксии происходит резкий рост показателя малатдегидрогеназы и лактат (МДГ/ЛДГ) у гидроида и ботриллуса, увеличиваются концентрации каротиноидов и растет показатель РНК/ДНК – у гидроида, ботриллуса и мшанки, снижаются концентрации гликогена – у гидроида и кислоторастворимых углеводов – у ботриллуса.

Характер метаболических процессов является индикатором состояния организмов и их популяций в различных условиях обитания, поэтому изучение этих процессов является весьма актуальным при решении экологических проблем [2, 4]. В подобных исследованиях значительное место отводится изучению энергетического обмена гидробионтов в экстремальных условиях, в частности при гипоксии [10, 11]. В последние годы в связи с загрязнением акватории Черного моря изучение приспособительных реакций черноморских гидробионтов к гипоксии приобрело особую актуальность [11].

Известно, что основным источником энергии для гидробионтов, ведущих прикрепленный образ жизни, является гликолиз [2]. Так, при изучении мидий показана высокая чувствительность ферментов заключительного этапа гликолиза к гипоксии [5].

Типичными представителями биоценоза обрастания в Черном море являются гидроид *Obelia loveni*, асцидия *Botryllus schlosseri* и мшанка *Lepralia pallasiana*, однако, особенности катаболизма углеводов и возможные в этой связи адаптации у данных видов не изучались. Представляло интерес также выяснить, являются ли идентичными адаптации к гипоксии у представителей одной экологической ниши, но разных таксономических групп. Ранее нами были выявлены некоторые закономерности в изменении активности «пусковых» ферментов гликолиза при гипоксии: гексокиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при гипоксии [1]. В настоящей работе была поставлена цель изучить изменение конечных звеньев гликолиза при гипоксии на примере трех представителей биоценоза обрастания. Исходя из предположения, что динамика химического состава организма связана с изменениями окружающей среды, при поиске тест-параметров на гипоксию исследовали изменения показателей химического состава гидробионтов.

Материал и методы. Объектом исследования служили массовые виды в обрастании: гидроид *Obelia loveni* (Allan, 1859), колониальная асцидия *Botryllus schlosseri* (Pallas, 1766) и мшанка *Lepralia pallasiana* (Moll, 1803). Колонии обрастателей выращивали на стеклянных пластинах, которые экспонировали в кутовой части Севастопольской бухты на глубине 1,5 – 2 м. На экспозицию пластины выставляли ежемесячно. Эксперименты на гидроидах проводили с февраля по май, на ботриллусах и мшанках – с июня по август 1992 г. Всего обработано 97 проб. Учитывали стадии развития гидробионтов: активный рост (3-х – 4-недельные популяции до наступления активного гаметогенеза) и старение – популяции с морфологическими признаками начала редукции колонии [3]. Условия гипоксии создавали при экспонировании животных в течение 24 ч в закрытых сосудах с морской водой. Биомасса гидробионтов составляла 300 г на 0,5 л воды. Содержание кислорода в такой среде через 24 ч – 0,4 – 0,5 мл/л. Исследовали изменение уровня активности малатдегидрогеназы (МДГ-фермент обращенного участка цикла трикарбоновых кислот) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ-фермент конечного звена гликолиза). Активность ферментов определяли спектрофотометрически по стандартной методике [8] при $t = 25^\circ\text{C}$. За единицу активности фермента принимали его количество, которое катализирует превращение 1 нмоля субстрата в минуту при оптимальных условиях определения. Рассчитывали коэффициент МДГ/ЛДГ, характеризующий устойчивость гидробио-

нтов, ведущих прикрепленный образ жизни, к гипоксии [5]. Показатели химического состава определяли по комплексной методике определения химического состава живых организмов, модифицированной в отделе санитарной гидробиологии ИнБЮМ [6]. Материалы исследования обрабатывали методами вариационной статистики [9]. Посчитаны величины среднего квадратичного отклонения, критерии достоверности для малых ($n < 20$) выборок.

Результаты и обсуждение. Максимальная активность ЛДГ наблюдалась у гидроида и ботриллуса на стадии активного роста (табл. 1). В период затухания физиологических процессов уровень активности ЛДГ у гидроида не снизился и составил 12 нмоль/мг белка/мин. У ботриллуса на стадии активного роста активность ЛДГ составляла 13 нмоль/мг белка/мин и во время старения уменьшилась вдвое. У мшанки отмечена стабильно низкая активность ЛДГ на всех стадиях развития популяции. После 24 ч гипоксии наблюдалось снижение активности фермента: в 3,7 раз - у гидроида и почти в 2 раза - у ботриллуса. У мшанки уровень активности фермента оставался неизменным.

Активность ЛДГ у всех изучаемых обростателей была очень низкой. Такая же низкая активность фермента обнаружена рядом авторов для животных, ведущих прикрепленный или малоподвижный образ жизни [5], в отличие от рыб. Крайне низкая активность ЛДГ заставляет предположить, что у изучаемых гидробионтов так же, как и у мидий, происходит редукция последних этапов гликолитического пути, и в точке образования фосфоэнолпирувата (ФЭП) катаболизм углеводов, возможно, идет по пути ФЭП-ЦУК [5].

Таблица 1. Активность МДГ, ЛДГ (нмоль/мг белка/мин.) и соотношение активностей МДГ/ЛДГ у некоторых видов макрообрастания в норме и гипоксии

Table 1. The activity of MDG, LDG and MDG/LDG ratio in some fouling hydrobionts under normal conditions and hypoxia

Объект	Стадия развития:						Гипоксия		
	активный рост			старение			активный рост		
	мдг	лдг	мдг/лдг	мдг	лдг	мдг/лдг	мдг	лдг	мдг/лдг
Г	1000±40	12±2	81	1196±51	12±2	98	1800±86	3±0,2	530
Б	898±63	13±2	70	560±30	7±1	76	2250±300	7±0,3	345
М	936±113	3±0,2	374	1000±157	2±0,4	400	960±98	2±0,2	384

Примечание: Г - гидроид; М - мшанка; Б - ботриллус

Активность МДГ у гидроида была максимальной при гипоксии и довольно высокой в период старения (табл. 1). На стадии активного роста уровень активности МДГ был несколько ниже. У мшанки значения активности МДГ колебались в близких пределах - от 956 до 1000 единиц, как в процессе онтогенеза, так и при гипоксии. Различия активности МДГ у мшанки были статистически недостоверны. У ботриллуса при старении колоний активность МДГ угнеталась, после гипоксии наблюдалось, напротив, резкое возрастание активности фермента (табл. 1). По [4], для ряда гидробионтов (пластинчатожаберных и брюхоногих моллюсков, баянусов) характерна высокая активность цитоплазматической МДГ. В тканях изученных нами животных высокая активность МДГ сочетается с низкой активностью ЛДГ. На основании полученных данных по активности МДГ и ЛДГ и при их сопоставлении с аналогичными данными по мидиям [5] и баянусам [2], можно предположить, что у исследованных животных лактат не является конечным продуктом распада гликогена. Возможно, что адаптации у данных видов идут по пути изменения конечных этапов катаболизма углеводов, в результате которых образуется не токсичный лактат, а сукцинат.

Незначительные изменения активности МДГ в онтогенезе мшанки свидетельствуют, возможно, об участии в окислительном обмене этих животных каких-то иных адаптационных механизмов. Изменения МДГ у ботриллуса в онтогенезе составляют 38 % и при гипоксии - 150%, что позволяет говорить о механизме биохимической адап-

тации с активным включением МДГ. Тот факт, что активность МДГ мшанки при гипоксии не повышается, позволяет предположить наличие внутриклеточного депо кислорода, роль которого, возможно, играют каротинооксисомы [7].

Существует предположение, что соотношение МДГ/ЛДГ является показателем устойчивости гидробионтов к гипоксии [5]. При подсчете этого показателя были получены данные, приведенные в таблице 2. У ботриллуса и гидроида при изменении физиологического состояния и, особенно, при гипоксии наблюдается резкое возрастание показателя МДГ/ЛДГ, что свидетельствует об устойчивости этих организмов к гипоксии. У мшанки в аналогичных условиях этот показатель довольно высок и практически стабилен на всех стадиях, что указывает на наличие иных механизмов адаптации к гипоксии, помимо гликолиза.

Полученные данные по активности ферментов свидетельствуют о том, что у исследуемых видов сообщества обрастания биохимическая организация заключительного этапа гликолиза характеризуется единой схемой. Однако в условиях гипоксии у разных видов потенциальные возможности этой схемы реализуются в различной степени: наиболее сильно они проявляются у гидроида, наименее - у мшанки.

Исходя из предположения, что соотношение МДГ/ЛДГ может являться показателем эврибионтности видов [2], интересно было провести сравнительный анализ этого показателя у изучаемых видов обрастателей и других представителей морской фауны (табл. 2).

Таблица 2. Соотношение МДГ/ЛДГ у некоторых гидробионтов
Table 2. The MDG/LDG ratio in some hydrobionts

Гидробионты	МДГ/ЛДГ	Источник
Гидроид <i>Obelia loveni</i>	83,3	Наши данные
Ботриллус <i>Botryllus schlosseri</i>	70,0	Наши данные
Мшанка <i>Lepralia pallasiana</i>	374,0	Наши данные
Моллюски		
<i>Mercenaria mercenaria</i>	110,0	[2]
<i>Mytilus grayanus</i>	75,0	[2]
<i>M. galloprovincialis</i>	58,0	[2]
<i>Mizuchopecten yessoensis</i>	10,0	[2]
Ракообразные		
<i>Balanus improvisus</i>	6,6	[2]
<i>Crangon crangon</i>	1,8	[2]
<i>Carcinus mediterraneus</i>	1,9	[2]

Среди моллюсков наименьший коэффициент у *Mizuchopecten yessoensis* - дальневосточного моллюска, живущего в аэрируемых участках акватории при полной океанической солености. Данный вид характеризует крайне низкая приспособленность к гипоксии, и даже незначительное снижение концентрации кислорода вызывало гибель 80 - 85 % молоди [2]. Моллюск *Mercenaria mercenaria* периодически зарывается в грунт, подвергаясь, таким образом, воздействию дефицита кислорода. Вероятно, в связи с этим, соотношение МДГ/ЛДГ у этого вида возрастает на 110 единиц. *Mytilus galloprovincialis* ведет прикрепленный образ жизни, характеризуется высокой резистентностью к колебаниям среды обитания (МДГ/ЛДГ - 58). Изучаемые нами виды - гидроид, ботриллус, мшанка - являются типичными представителями биоценоза обрастания и, предположительно, должны обладать высокой резистентностью к гипоксии. У мшанки и ботриллуса значение МДГ/ЛДГ превышает таковое у *M. mercenaria* и в 2 - 6 раз выше, чем у *M. galloprovincialis*. У баянуса, представителя ценоза обрастания, соотношение МДГ и ЛДГ ниже, чем у других видов (табл. 2). Однако, среди представителей ракообразных данный коэффициент самый высокий.

Исследование изменений химического состава в условиях гипоксии выявило возрастание каротиноидов в 1,5 - 2,5 раза для всех изучаемых видов (табл. 3). Существу-

ет взаимосвязь между концентрацией каротиноидов в тканях ряда моллюсков и степенью их устойчивости к гипоксии [7]. При этом большей устойчивости соответствует большая концентрация каротиноидов. Наши данные не противоречат указанному факту. В то же время резкое возрастание показателя в условиях кратковременной гипоксии говорит о стрессе, вызванном данным фактором. Для гидроида было характерно снижение концентрации гликогена в 1,5 раза, для ботриллуса - снижение кислоторастворимых углеводов в 2 раза. Кроме того, выявлено возрастание показателя РНК/ДНК для гидроида, ботриллуса и мшанки.

Таблица 3. Изменения химического состава гидробионтов при гипоксии
Table 3. The variation in chemical composition of fouling hydrobionts under the hypoxia

Параметры	Гидроид		Ботриллус		Мшанка	
	норма	гипоксия	норма	гипоксия	норма	гипоксия
К	0,15±0,04	0,30±0,09	0,27±0,04	0,41±0,09	0,32±0,06	0,60±0,08
РНК/ДНК	9,0	12,9	7,5	11,8	6,3	12,2
УК			0,72±0,08	0,35±0,10		
Г	0,60±0,03	0,40±0,05				

Примечание: К – каротиноиды (мг/%); УК – углеводы кислоторастворимые (% к сухому весу); Г – гликоген (% к сухому весу)

Выводы. 1. Установлена крайне низкая активность ЛДГ у трех видов обрастателей - гидроида *Obelia loveni*, асцидии *Botryllus schlosseri* и мшанки *Lepralia pallasiana*, что, вероятно, является общей характерной чертой для гидробионтов, ведущих прикрепленный или малоподвижный образ жизни. 2. Вероятная редукция последних этапов гликолиза, исключающая образование токсичного лактата, а также активация МДГ гидроида и ботриллуса в условиях гипоксии являются приспособительными реакциями данных организмов. 3. Резкое возрастание показателя МДГ/ЛДГ у гидроида и ботриллуса при гипоксии свидетельствует об устойчивости к данному фактору. 4. В условиях гипоксии достоверно меняющимися параметрами химического состава изучаемых видов являются каротиноиды, РНК/ДНК (для всех трех видов), гликоген (для гидроида), кислоторастворимые углеводы (для ботриллуса).

1. Береговая Н. М., Шапиро А. З., Хазанова Е. М. Роль гексокиназы и глюкозо - 6 - фосфатдегидрогеназы в адаптациях гидробионтов - обрастателей // Экология моря. - 1992. - Вып. 42. - С. 36 - 40.
2. Бобкова А. Н. Адаптации организмов ценоза обрастания к экстремальным воздействиям // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. - Севастополь, 1980. - 23 с.
3. Брайко В.Д. Обрастание в Черном море. - Киев: Наук. думка. - 1985. - 123с.
4. Вержбинская Н. А., Савина Н. В. Эволюция гликолитической системы в типе моллюсков // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. - 1971. - 7, №4. - С. 337 - 347.
5. Горомосова С. А., Шапиро А. З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1984. - 120 с.
6. Дивавин И. А., Копытов Ю. П. Динамика изменений биохимического состава отдельных органов мидии *Mytilus galloprovincialis* при интоксикации соляром // Экология моря. - 1988. - Вып. 26. - С. 80 - 86.
7. Карнаухов В.Н. Роль моллюсков с высоким содержанием каротиноидов в охране водной среды от загрязнения. - Пушино, 1978. - 73 с. (Препринт / Науч. Центр биол. исслед. АН СССР. Ин-т биол. физики АН СССР).
8. Мильман Л. С., Юровицкий Ю. Г., Ермолаева Л. П. Определение активности важнейших ферментов углеводного обмена // Методы биологии развития. - М.: Наука, 1974. - С. 346 - 363.
9. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. - М.: Медицина, 1975. - 295с.

10. Шульман Г. Е., Столбов А. Я., Ставицкая Е. Н. Метаболическая стратегия адаптации гидробионтов к низкому содержанию кислорода // Тез. докл. на XXXI Европейском симп. по морской биологии. - С. - Петербург, 1996. - 73 с.
11. Эмеретли И. В. Влияние гипоксии различной продолжительности на активность малат- и лактатдегидрогеназы в тканях мидии // Гидробиол. журн. - 2001. - 37, №2. - С. 81 - 85.
12. Russel E. I., Storex K B. Regulation of enzymes of carbohydrate metabolism during anoxia in the salt marsh bivalve *Genkensia denissus* // *Physiol. Zool.* - 1995. - 68, No 4. - P. 567 - 582.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 15.04.2002

N. M. BEREGOVAYA

INFLUENCE OF HYPOXY ON BIOCHEMICAL COMPOSITION AND ELEMENTS OF CARBOHYDRATE EXCHANGE OF FOULING HYDROBIONTS

Summary

Possibility of some biochemical indexes used in investigation of biochemical adaptations of some hydrobionts, namely *Obelia loveni*, *Botryllus schlosseri* and *Lepralia pallasiana* is being discussed. The increase of MDG/LDG index (in 5 - 5,6 times) in hydroid and botryllus under hypoxia is observed. In all studied species hypoxia caused an increase of carotinoids and RNA/DNA index. Lowering of glycogene level was characteristic for a hydroid and acid-soluble carbohydrate level - for a botryllus.