

Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря.
Материалы IX международной конференции
11-14 октября 2004 г., Петрозаводск, Карелия, Россия
Петрозаводск, 2005. С. 27-30.

УЧАСТИЕ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ НУКЛЕАЗ В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

В.С. АМЕЛИНА, Р.У. ВЫСОЦКАЯ, Т.А. ЛОМАЕВА, Г. А. ШКЛЯРЕВИЧ

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Изучали влияние различных типов техногенного загрязнения воды на активность лизосомальных нуклеаз у типичных беспозвоночных Белого моря *Mytilus edulis* и *Gammaridae* spp. Была показана относительная стабильность исследуемых ферментов с незначительным отклонением от контрольного уровня. На основе полученных данных сделан вывод об успешной адаптации гидробионтов к загрязнению за счет неспецифических механизмов.

V.S. Amelina, R.U. Vysotskaya, T.A. Lomaeva, G.A. Shcklarevich. The role of the lysosomal nucleases in adaptive responses of marine invertebrates // The study, sustainable use and conservation of natural resources of the White Sea. Proceedings of the IXth International Conference, October, 11-14, 2004. Petrozavodsk, Karelia, Russia. Petrozavodsk, 2005. P. 27-30.

Impact of the different technogenic types of water pollution on lysosomal nucleases activity in the typical invertebrates animals of the White Sea *Mytilus edulis* and *Gammaridae* spp. was studied. The relative stability of analyzed enzymes with an insignificant difference from control level was shown. According to the data obtained the conclusion was made about successful adaptation of studied hydrobionts to water pollution by unspecific mechanisms.

Морские экосистемы побережья Кандалакшского залива Белого моря в значительной мере подвержены трансформации вследствие комплексного загрязнения различными сбросами антропогенного происхождения. Спектр поллютантов Белого моря достаточно широк. В первую очередь, это стоки бытовых вод, нефтяное загрязнение, органические вещества, образующиеся при гниении древесины, ионы различных металлов (в том числе, тяжелых и переходных), вызывающие локальное нарушение ионного баланса морской воды (Наумов, Оленев, 1981).

В связи с этим биота водоема сталкивается с необходимостью выработки определенных приспособительных механизмов к измененным условиям существования. Удобным объектом для изучения адаптаций гидробионтов к различным биотическим и абиотическим факторам являются представители макрозообентоса, благодаря их повсеместному распространению и привязанности к месту обитания (Регеранд, Дубровина, 1995; Riba, Del Vals et al., 2004; Nagelkerken, Debrot, 1995).

Как известно, лизосомам принадлежит значительная роль в формировании устойчивости организма к стрессирующим воздействиям, поскольку любой патологический процесс, вызванный тем или иным токсикантом, неизбежно проходит стадию деструкции клеточных структур с участием лизосомальных гидролаз (Высоцкая, Сидоров, 1981; Высоцкая, Руоколайнен, 1993; Кулинский, 1999; Чекунова, Фролова, 1986; Marigomes, Baybay-Villacorta, 2003). Одними из интереснейших лизосомальных

ферментов являются нуклеазы – ферменты деполимеризации нуклеиновых кислот, участвующие в ключевых процессах жизнедеятельности клетки. Однако их роль в акклимации гидробионтов к экологическому стрессу на данный момент изучена недостаточно.

Исходя из вышесказанного, было предпринято исследование влияния различных типов загрязнения на активность кислых нуклеаз у беспозвоночных Белого моря.

Материал и методы исследования

Объектом для данного исследования служили типичные представители бентоса Белого моря – двустворчатые моллюски *Mytilus edulis* и ракообразные амфиподы *Gammaridae* spp., выловленные в различных зонах Кандалакшского залива Белого моря в летний период 2003 г.

Мидий собирали в 6, амфипод – в 11 местах акватории залива (Табл. 1). Сбор проб проводили в зонах, различающихся по удаленности от населенных пунктов и типу загрязнения. По данному признаку все зоны сбора материала могут быть подразделены на группы: 1) устья крупных рек, являющиеся местом накопления загрязнителей среды, содержащихся в сточных водах, включая тяжелые металлы (точки 3, 4); 2) стоки морского порта г. Кандалакша, насыщенные соединениями кальция и фосфора из состава апатитового концентрата (точки 5 - 7); 3) места локального радиоактивного загрязнения в 2001 г. (точки 8, 9); 4) зона нефтяного загрязнения (точка 10) и 5) район интенсивных промышленных

сбросов (точка 11). Контролем служили особи из условно «чистой» зоны акватории Белого моря, наиболее удаленной от источников антропогенного воздействия - мыс Турий (точка 1). Губа Порья (точка 2) также рассматривается как относительно «чистый» район.

В гомогенатах цельных организмов определяли активность кислых лизосомальных ДНКаз и РНКаз.

Таблица 1. Характеристика точек сбора амфипод *Gammaridae* spp. и мидий *M. edulis* в Кандалакшском заливе Белого моря

№	Точки сбора	Близость к источникам загрязнения	Преобладающий тип загрязнения
1.	мыс Турий	150 км от г. Кандалакша и 30 км от пос. Умба	наиболее чистый район
2.	губа Порья	90 км от г. Кандалакша и 30 км от пос. Умба	чистый район
3.	о. Ряшков	5 км от пос. Умба	бытовые сточные воды, агрохимия
4.	пос. Лувеньга	побережье пос. Лувеньга	
5.	о. Большой Березовый	5 км от г. Кандалакша	бытовые сточные воды, повышенное содержание соединений Са и Р из апатитового концентрата из морского порта г.Кандалакша
6.	о. Еловый	5 км от г. Кандалакша	
7.	о. Большой Лупчостров	1 км от г. Кандалакша	
8.	о. Большая Половинница	2 км от г. Кандалакша	радиоактивное точечное загрязнение Sr ⁹⁰ и Y ⁹⁰ (апрель 2001 г.)
9.	о. Малый	1,4 км от г. Кандалакша	
10.	о. Олений	2,5 км от нефтебазы станции Белое море	нефтепродукты
11.	"механический завод"	в городской черте г. Кандалакша	неорганические кислоты от аккумуляторов, нефтепродукты, бытовые стоки, опилки древесные с лесозавода

Результаты исследования

Результаты исследования активности кислых лизосомальных нуклеаз приведены на рисунках 1–4. Согласно полученным данным, активность изучаемых ферментов у исследуемых видов в одинаковых условиях среды варьирует по-разному. Так, у мидий под воздействием различных загрязнителей она в той или иной мере снижается, тогда как у амфипод в некоторых случаях наблюдается значительное превышение контрольного уровня. В основном, это касается активности рибонуклеазы, достигающей максимальных значений у особей, собранных близ пос. Лувеньга (точка 4) и острова Б. Половинница (точка 8), а также из зоны с наибольшей техногенной нагрузкой – район стоков «механического завода» (точка 11). Для этих проб отмечена и несколько повышенная активность кислой ДНКазы. В целом, активность ДНКазы была более стабильна, чем РНКазы.

Обсуждение

В данном исследовании в качестве контроля служил материал, собранный в двух чистых зон Кандалакшского залива – удаленный от источников

Материал гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы с добавлением Тритона X-100 для учета латентной ферментативной активности. Активность нуклеаз определяли спектрофотометрически по методам, описанным ранее (Высоцкая и др., 1993). Активность нуклеаз выражали в условных единицах ΔE_{260} на 1 г ткани в 1 мин при 30 °С.

техногенного загрязнения Турий мыс и побережье Порьей губы, прилегающего к территории Кандалакского заповедника. Различие ферментативной активности у особей из названных зон, а именно значительно более низкий уровень активности кислых нуклеодеполимераз у беспозвоночных из Порьей губы, явилось неожиданным и интересным результатом. Причем, для обоих видов снижение активности ферментов было пропорциональным – порядка 65–70% для РНКазы (Рис. 1, 3) и 35–40% для ДНКазы (Рис. 1, 4). Такое строгое соотношение активности при схожих условиях среды обитания, не испытывающей посторонних воздействий, позволяет предположить, что полученный интервал отражает норму реакции экзаменуемых параметров для данных видов. Столь высокий потенциал фенотипической изменчивости лизосомальных ферментных систем может иметь приспособительное значение для организмов с относительно низким уровнем развития регуляторных систем, коими являются мидии и амфиподы, что дает им возможность поддерживать нормальный метаболический статус при значительных колебаниях факторов внешней среды (Хлебович, 1981).

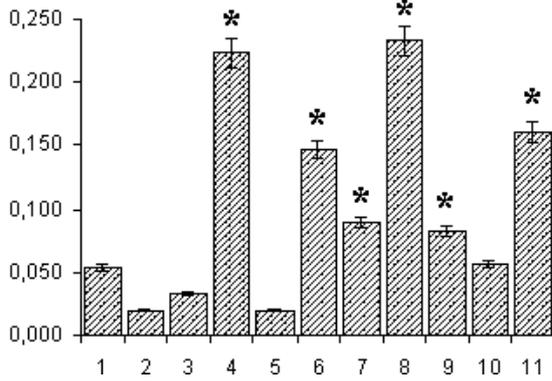


Рис. 1. Активность кислой рибонуклеазы у амфипод *Gammaridae* spp. из различных зон Кандалакшского залива Белого моря

Здесь и далее: по оси ординат – активность ферментов в ΔE₂₆₀ на 1 г сырого веса в минуту,
* - различия с контролем достоверны.

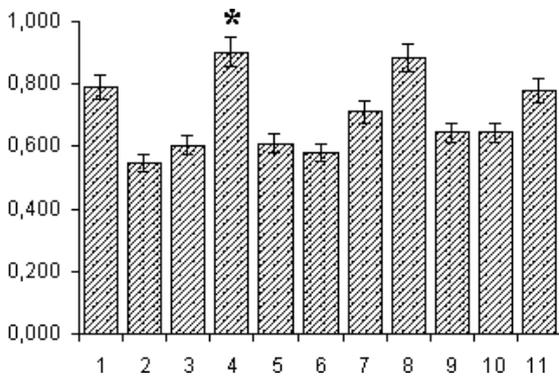


Рис. 2. Активность кислой дезоксирибонуклеазы у амфипод *Gammaridae* spp. из различных зон Кандалакшского залива Белого моря

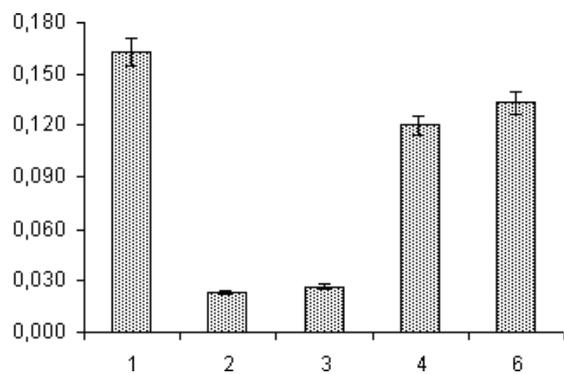


Рис. 3. Активность кислой рибонуклеазы у мидий *Mytilus edulis* из различных зон Кандалакшского залива Белого моря

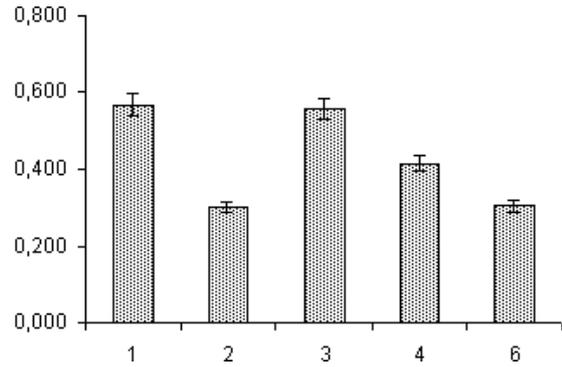


Рис. 4. Активность кислой дезоксирибонуклеазы у мидий *Mytilus edulis* из различных зон Кандалакшского залива Белого моря

Исходя из сказанного выше, при анализе результатов отклонением от нормы считали данные, выходящие за границы означенного интервала. Относительная стабильность показателей активности лизосомальных нуклеаз, в особенности, дезоксирибонуклеазы, позволяет констатировать отсутствие патологических изменений на уровне ДНК, а следовательно, генома в целом, и дает основание полагать, что исследованные нами виды весьма успешно адаптировались к техногенно измененной среде обитания. Причем адаптивные механизмы данных беспозвоночных реализуются, вероятно, на уровне модуляции уже существующих макромолекул, практически не затрагивая ядерного генома (Хлебович, 1981; Хочачка, Сомеро, 1977). Это вполне согласуется с более высокой вариабельностью кислой рибонуклеазы по сравнению с ДНКазой, а также значительными изменениями протеолитической активности пропорционально степени антропогенной нагрузки, отмеченными у амфипод в ходе комплексного исследования (Бондарева, 2004). Не последняя роль в развитии толерантности организмов к влиянию абиотических факторов различной природы отводится изменению проницаемости билипидного слоя мембран (Кяйвяряйнен и др., 2004; Романенко и др., 1982; Реперанд, Дубровина, 1995; Marigomes, Baybay-Villacorta, 2003)

Таким образом, в клетках гидробионтов из загрязненных вод, по всей видимости, присутствует определенный набор матриц и белков, необходимый для эффективной компенсации токсических воздействий поллютантов, сформировавшийся в ходе длительного хронического воздействия загрязнения на организмы. Это позволяет говорить об успешной адаптации мидий и амфипод Белого моря к измененной среде обитания, главным образом, за счет неспецифических механизмов.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-894.2003.4 и программы ОБН «Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами» № 10002-251/ОБН-02/151-433.220503-181.

Литература

- Бондарева Л.А. 2004. Влияние некоторых факторов среды на внутриклеточный протеолиз у гидробионтов: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 23
- Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. 1981. Участие лизосомального аппарата в ответной реакции организма на воздействие антропогенных факторов внешней среды // В кн.: Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых других животных. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 5–18.
- Высоцкая Р.У., Руокалайнен Т.Р. 1993. Об экологической значимости лизосомальных ферментов // В кн.: Теоретические аспекты экологической биохимии. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 78–91.
- Высоцкая Р.У., Шустова Н.К., Заличева И.Н. 1993. Изменение активности лизосомальных ферментов у личинок онежской палии и радужной форели под влиянием токсикантов // В кн.: Биохимические методы в экологических и токсикологических исследованиях. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 63–73.
- Кулинский В.И. 1999. Обезвреживание ксенобиотиков // Сорос. образ. ж. № 1. С. 8–12.
- Кяйвярйянен Е.И., Нефедова З.А., Бондарева Л.А., Алексеева Н.Н., Бахмет И.Н., Немова Н.Н. 2004. Взаимосвязь содержания холестерина в мембранах и активности кальцийактивируемых протеиназ мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при изменении солёности среды обитания // Междунар. Конф. «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов». Тез. докл. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 78–79.
- Наумов А.Д., Оленев А.В. 1981. Зоологические экскурсии на Белом море: Пособие для летней учебной практики по зоологии беспозвоночных. Под ред. А.А. Стрелкова. Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та. 176 с.
- Регеранд Т.И., Дубровина Л.В. 1995. Изменение некоторых биохимических параметров липидного обмена прудовиков при нарушении в воде соотношения катионов // В кн.: Влияние техногенных вод горнообогатительного комбината на водоемы системы реки Кенти. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 34–43.
- Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. 1982. Кальций и фосфор в жизнедеятельности гидробионтов. Киев: Наукова думка. 152 с.
- Хлебович В.В. 1981. Акклимация животных организмов. Л.: Наука. 136 с.
- Хочачка П., Сомеро Дж. 1977. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир. 296 с.
- Чекунова М.П., Фролова А.Д. 1986. Роль лизосом в токсикологии металлов // 3-ий всесоюз. симпоз. «Структура и функции лизосом». Тез. докл. Тбилиси: Изд-во ХОЗУ Минуралсибстроя СССР. С. 228–229.
- Marigomes I., Baybay-Villacorta L. 2003. Pollutant-specific and general lysosomal response in digestive cells of mussels exposed to model organic chemicals // *Aquat. Toxicol.* V. 64. P. 235–257.
- Nagelkerken I.A., Debrot A.O. 1995. Mollusc communities of tropical rubble shores of Curaçao: long-term (7+ years) impact of oil pollution // *Marine Pollution Bull.* V. 30. №9. P. 592–598.
- Riba I, Del Valls T.A., Forja J.M., Gomez-Parra A. 2004. The influence of pH and salinity on the toxicity of heavy metals in sediment to the estuarine clam *Ruditapes philipinarium* // *Environ. Toxicol. Chem.* V. 23 (5). P. 1100–1107.