

Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря.  
Материалы IX международной конференции  
11-14 октября 2004 г., Петрозаводск, Карелия, Россия  
Петрозаводск, 2005. С. 72-75.

## АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ МИДИЙ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ СОЛЕННОСТИ

Р.У. ВЫСОЦКАЯ, Т.А. ЛОМАЕВА, С.А. ТАКСШЕЕВ, В.С. АМЕЛИНА, И.Н. БАХМЕТ

*Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск*

В экспериментах по влиянию разного уровня солености (5, 15, 25, 35 и 45‰) на биохимические показатели мидий *Mytilus edulis* изучали активность лизосомальных ферментов (РНКаза, ДНКаза,  $\beta$ - глюкозидаза и кислой фосфатазы), щелочной фосфатазы, альдолазы и содержания белка. Наиболее значительно (в несколько раз) изменялась активность кислой и щелочной фосфатаз и РНКазы. Активность других ферментов и содержание белка изменялись не так значительно. Колебание уровня ферментов наблюдались у моллюсков из литоральной и сублиторальной зон Белого моря, как при опреснении воды (5‰), так и при повышенной по сравнению с контролем солености (25‰). Умеренное разбавление морской воды (15‰) вызвало снижение всех изученных показателей.

R.U. Vysotskaya, T.A. Lomaeva, S.A. Taksheev, V.S. Amelina & I.N. Bahmet. Lysosomal and some other enzymes activity in tissues of *Mytilus edulis* under different salinity // 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. 72-75.

The activity of lysosomal enzymes (RNAase, DNAase,  $\beta$ -glucosidase and acid phosphatase activities), alkaline phosphatase, and aldolase and the content of protein were measured in experiments on the effect of different salinity (5, 15, 25, 35 и 45 ‰) on biochemical indexes of *Mytilus edulis*. The activity of acid and alkaline phosphatases and RNAase had more significant changes than the activity of other enzymes and protein content. Fluctuations of *Mytilus edulis* enzyme contents in litoral and sublittoral areas of the White Sea were observed both at low salinity (5‰) and exceeding control (25‰) salinity. Medium dissolving of sea-water (15‰) caused decrease in all indexes under study.

Все стороны жизнедеятельности живого организма испытывают влияние множества абиотических и биотических факторов, таких как температура, содержание кислорода, минеральный состав, количество пищевых объектов, взаимоотношения с другими организмами. При изучении проблемы приспособления водных организмов к изменяющимся условиям среды все шире применяются физиолого-биохимические методы исследования (Проссер, Браун, 1967; Хочачка, Сомеро, 1977; Хлебович, 1981), позволяющие составить представление о тонких внутриклеточных механизмах перестройки метаболизма в соответствии с новыми условиями.

Одними из наиболее широко используемых объектов при оценке экологического состояния водоемов, изучении температурных, соленостных и других адаптаций гидробионтов являются двустворчатые моллюски (Бергер и др., 1970; Виноградов, 1979; Шпаков, Деркач, 1994; Стадниченко и др., 1996; Haynes et al., 1995; Antoniou et al., 1996; Avery et al., 1996). Морские моллюски *Mytilus edulis* относятся к группе эврибионтных видов, способных существовать при значительных колебаниях температуры и солености. Биохимические механизмы соленостных адаптаций этих пойкилоосмотических организмов, неспособных к осмотической регуляции своей внутренней среды, изучены в гораздо мень-

шей степени, чем у гомеоосмотических животных (Хлебович, 1981; Мартимьянов, 1983; Физиология..., 1993).

Имеются немногочисленные сообщения об участии лизосом в биохимических механизмах приспособительных и защитных реакций у беспозвоночных гидробионтов, в том числе в условиях экологического стресса (Кулебакина, Пивоварова, 1988; Viarengo et al., 1988; Hemelraad et al., 1990; Marigómez et al., 1990).

В связи со сказанным выше, целью настоящей работы было изучение активности лизосомальных и некоторых других ферментов беломорских мидий *Mytilus edulis* при акклимации к различной солености.

### Материал и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали двустворчатых моллюсков *Mytilus edulis*, собранных в литоральной и сублиторальной зонах Канда-лакшского залива Белого моря (мыс Картеш). Мидий выдерживали в аквариумах с водой различной солености: 5, 15, 25, 35 и 45‰ при температуре 10°C. Контролем служили экземпляры мидий из аквариума с соленостью 25‰, что соответствует показателю, обычному для поверхностных вод этого района Белого моря. Экспозиция опыта составляла 12 суток. По окончании эксперимента моллюсков в

охлажденном состоянии доставляли в лабораторию для дальнейших исследований.

Из цельных мидий готовили 10%-ные гомогенаты на 0,25 М растворе сахарозы (рН 7,4), содержащем 0,001 М ЭДТА и 0,1 % неионного детергента тритона X-100. Гомогенаты подвергали центрифугированию на рефрижераторной центрифуге при 12 тыс. об/мин. в течение 30 минут. В надосадочной жидкости определяли активность четырех лизосомальных ферментов (кислой фосфатазы, РНКазы, ДНКазы,  $\beta$ -глюкозидазы), щелочной фосфатазы, альдолазы и содержание белка. Определение активности ферментов проводили по методам, описанным ранее (Баррет, Хит, 1980; Высоцкая и др., 1993), количество белка – по Лоури.

**Результаты**

Как показывают полученные результаты, изученные биохимические показатели в тканях мидий изменялись в той или иной степени под влиянием

различной солености среды (Рис. 1–4). Наиболее значимые отклонения от контрольного уровня отмечены для активности кислой и щелочной фосфатаз (Рис. 1) и лизосомальной РНКазы (Рис. 2). Активность последней, также как и всех других ферментов, снижалась в группах литоральных и сублиторальных моллюсков в варианте с соленостью 15‰.

При минимальной (5‰) и повышенной (35‰) концентрации соли наблюдалось значительное возрастание кислой РНКазы у мидий, собранных в сублиторальной зоне Белого моря. Следует отметить, что у литоральных моллюсков повышение активности этого фермента было выражено значительно слабее. Активность исследованных ферментов углеводного обмена изменялась незначительно. Уровень лизосомальной  $\beta$ -глюкозидазы был несколько снижен во всех вариантах опыта (Рис. 3), показатели активности гликолитического фермента – альдолазы оставались довольно стабильными (Рис. 4).

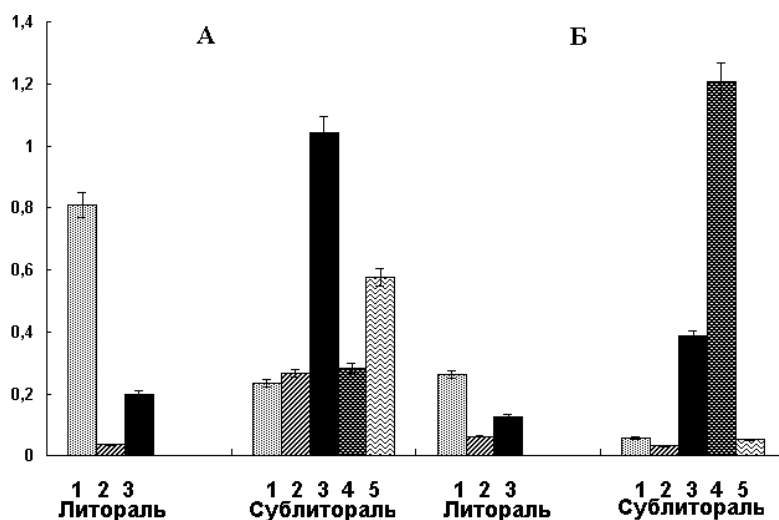


Рис. 1. Активность кислой (А, в  $\mu\text{г P}_{in}$ ) и щелочной (Б, в  $\mu\text{М p-нитрофенола}$ ) фосфатаз в тканях мидий *Mytilus edulis* из литоральной и сублиторальной зон Белого моря под влиянием различной солености

Здесь и далее: 1 – 5‰; 2 – 15‰; 3 – 25‰; 4 – 35‰; 5 – 45‰. По оси ординат – активность ферментов на 1 г сырого веса в минуту

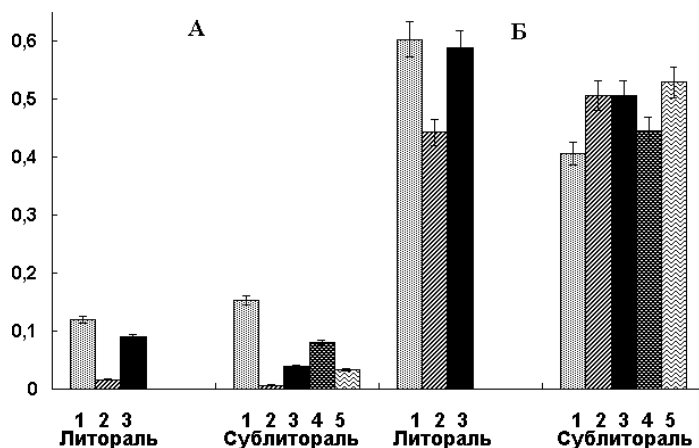


Рис. 2. Активность РНКазы (А,  $\Delta E_{260}$ ) и ДНКазы (Б,  $\Delta E_{260}$ ) в тканях мидий *Mytilus edulis* из литоральной и сублиторальной зон Белого моря под влиянием различной солености

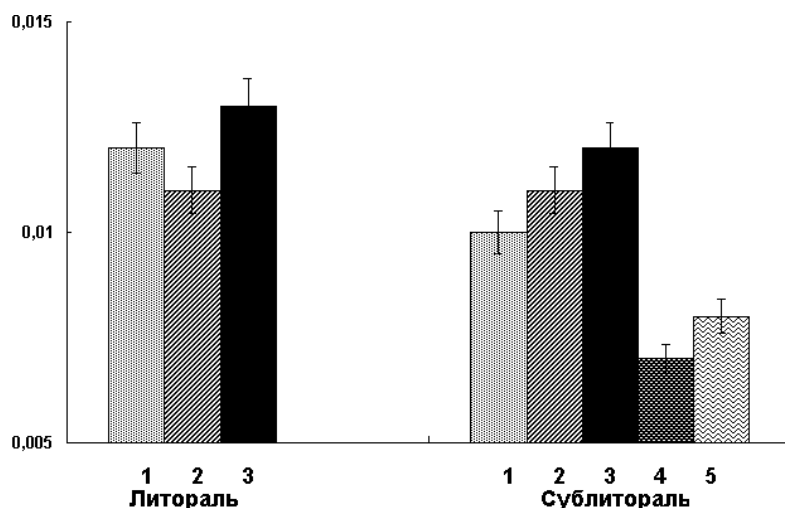


Рис. 3. Активность  $\beta$ -глюкозидазы (в мкМ п-нитрофенола) в тканях мидий *Mytilus edulis* из литоральной и сублиторальной зон Белого моря под влиянием различной солености

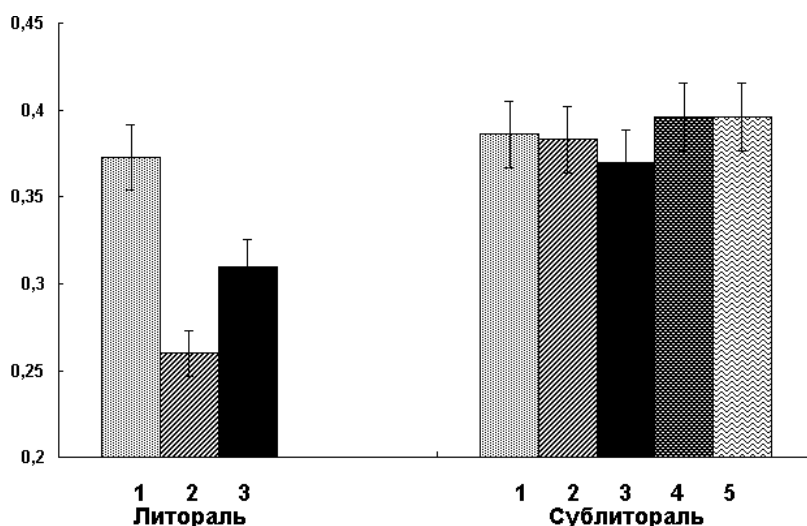


Рис. 4. Активность альдолазы (в  $\Delta E_{536}$ ) в тканях мидий *Mytilus edulis* из литоральной и сублиторальной зон Белого моря под влиянием различной солености

### Обсуждение

Биохимические механизмы адаптаций к условиям обитания отражают образ жизни, характер питания, стадию онтогенеза и годового цикла организма. Выявленное нами снижение активности большинства лизосомальных ферментов в тканях мидий при небольших изменениях солености вполне согласуется с характерной для этих животных способностью снижать интенсивность метаболизма в десятки раз в ответ на воздействие неблагоприятных факторов среды (Горомосова, Шапиро, 1984). В частности, при влиянии умеренной солености (14 ‰) было выявлено подавление белкового обмена у беломорских моллюсков других видов (Бергер, Харазова, 1971).

Повышение активности РНКазы и кислой фосфатазы при крайних значениях солености воды, свидетельствующее об интенсификации биосинте-

тических процессов, подтверждает первоочередное включение лизосомального аппарата в приспособительные реакции организма и зависимость интенсивности этих изменений от силы и дозы действующего фактора. Наблюдающийся в ряде вариантов опыта более низкий по сравнению с контролем уровень активности изученных биохимических показателей указывает на неспецифический характер этих реакций и разные адаптивные возможности двух исследуемых субпопуляций мидий.

Незначительные изменения активности ферментов углеводного обмена (альдолазы и лизосомальной  $\beta$ -глюкозидазы) связаны с особенностями биохимической организации ферментативных систем гликолиза и глюконеогенеза мидий. Кроме того, угнетение адаптивных возможностей, наблюдавшееся у мидий, может быть обусловлено снижением общего уровня метаболических процессов в период

полового покоя, в котором находились моллюски в момент проведения эксперимента. Низкая чувствительность ферментов углеводного обмена к регуляторным влияниям температуры, pH, специфических модуляторов позволяют этим ферментативным системам сохранять активность при изменении метаболического фонда клетки, наблюдающееся при значительных колебаниях абиотических факторов среды (соленость, температура, содержание кислорода). Это позволяет мидиям и другим двустворчатым моллюскам успешно адаптироваться к резким и частым изменениям условий существования (Горомосова, Шапиро, 1984).

*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

- Баррет А.Дж., Хит М.Ф. 1980. Лизосомальные ферменты // В кн.: Лизосомы. Методы исследования. М.: Мир. С. 25–156.
- Бергер В.Я., Луканин В.В., Лапшин В.Н. 1970. Дыхание некоторых литоральных беломорских моллюсков в процессе акклимации к изменениям солености среды // Экология. Т. 1, № 5. С. 68–72.
- Бергер В.Я., Харазова А.Д. 1971. Исследование субстанциональных изменений и синтеза белка в процессе адаптации некоторых беломорских моллюсков к понижению солености воды // Цитология. Т. 13, № 10. С. 1299–1303.
- Виноградов Г.А. 1979. Адаптация водных животных с различными типами осморегуляции к понижению pH внешней среды // Физиология и паразитология пресноводных животных. Труды, вып. 38 (41). Л.: Наука. С. 17–25.
- Высоцкая Р.У., Шустова Н.К., Заличева И.Н. 1993. Изменение активности лизосомальных ферментов у личинок онежской палии и радужной форели под влиянием токсикантов // Биохимические методы в экологических и токсикологических исследованиях. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 63–73.
- Горомосова С.А., Шапиро А.З. 1984. Основные черты биохимии энергетического обмена у мидий. М.: Легкая и пищевая промышленность. 120 с.
- Кулебакина Л.Г., Пивоварова И.Б. 1988. Накопление и детоксикация кадмия морскими двустворчатыми моллюсками // 5-ая Всесоюз. конф. по водной токсикологии. Тез. докл. М. С. 89–90.
- Мартемьянов В.И. 1983. Динамика концентрации электролитов у пресноводных рыб при стрессе // В кн.: Пресноводные гидробионты и их биология. Л.: Наука. С. 237–248.
- Проссер Л., Браун Ф. 1967. сравнительная физиология животных. М.: Мир. 766 с.
- Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Гузенко О.В., Свительский Н.М., Сычевский А.С. 1996. Влияние совместного воздействия трематодной инвазии, температуры среды и азотнокислого свинца на легочное дыхание прудовиков (*Pulmonata: Lymnaeidae*) // Паразитология. Т. 30, вып. 6. С. 515–520.
- Физиология водносолевого обмена и почки. 1993. Отв. ред. Ю.В. Наточин. СПб.: Наука. 576 с.
- Хлебович В.В. 1981. Акклимация животных организмов. Л.: Наука. 136 с.
- Хочачка П., Сомеро Дж. 1977. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир. 296 с.
- Шпаков А.О., Деркач К.В. 1994. Влияние катионов меди и кадмия *in vivo* и *in vitro* на активность аденилатциклазы и 5'-нуклеотидазы в тканях пресноводных моллюсков // Журн. эвол. биохимии и физиологии. Т. 30, № 6. С. 729–737.
- Antoniou V., Zantopoulos N., Tsitsamis S. 1996. Heavy metal concentrations in mussels from the gulf of Olimpias-Chalkidiki, Greece // J. Environ. Sci. and Health. A. Vol. 31, № 1. P. 55–65.
- Avery E.L., Dunstan R.H., Nell J.A. 1996. The detection of pollutant impact in marine environments: condition index, oxidative DNA damage, and their associations with metal bioaccumulation in the Sydney rock oyster *Saccostrea commercialis* // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. Vol. 31, № 2. P. 192–198.
- Haynes D., Mosse P., Oswald L. 1995. The use of transplanted cultured mussels (*Mytilus edulis*) to monitor pollutants along the Ninety Mile Beach, Victoria, Australia. II. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans // Mar. Pollut. bull. Vol. 30, № 12. P. 834–839.
- Hemelraad J., Herwig H.J., Van Donselaar E.J., Holweida D.A., Zandee D.J. 1990. Effects of cadmium in freshwater clams. II. Ultrastructural changes in the renal system of *Anodonta cygnea* // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. Vol. 19, № 5. P. 691–698.
- Marigómez J., Jreland M.P., Angulo E. 1990. Correlation of cadmium shell-weight index with environmental stress indicators at the cellular and organismic levels in *Litorina littorea* // Mar. Ecol. Progr. Ser. Vol. 67, № 2. P. 171–176.
- Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Mancinelli J., Orunesu M., Mazzucotelli A., Bouqueneau J. M. 1988. Biochemical characterization of copper-thionein involved in Cu accumulation in the lysosomes of the Digestive Hand of mussels exposed to the metal // Mar. Environ. Res. Vol. 24, № 1–4. P. 163–166.