

РГБ ОД
051.1.1
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А.О.КОВАЛЕВСКОГО

Вялова

ВЯЛОВА
Оксана Юрьевна

УДК 594.124:591.1(262.5)

**ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И АЗОТИСТОГО
МЕТАБОЛИЗМА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ ЧЕРНОМОРСКИХ МИДИЙ
MYTILUS GALLOPROVINCIALIS LAM.
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

03.00.17. - гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Севастополь - 2000

Диссертация является рукописью.

Работа выполнена в Институте биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь.

Научный руководитель: доктор биологических наук,
член-корреспондент НАН Украины,
профессор,
Шульман Георгий Евгеньевич,
заведующий отделом ИнБЮМ

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор,
Миронов Олег Глебович,
заведующий отделом ИнБЮМ

доктор биологических наук, профессор,
Арсан Орест Михайлович,
заведующий отделом Института
гидробиологии

Ведущая организация: Одесский государственный университет
им. И.И.Мечникова,
биологический факультет,
Министерство образования Украины,
г. Одесса

Защита диссертации состоится "12" мая 2000 г. в 10 часов
на заседании специализированного ученого совета Д 50.214.01
при Институте биологии южных морей НАН Украины,
адрес: 99011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии
южных морей НАН Украины,
адрес: 99011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2.

Автореферат разослан "10" мая 2000 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
кандидат биологических наук



Неврова Е.Л.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Комплексные исследования водных организмов с использованием морфофизиологических и физиолого-биохимических показателей были и остаются актуальными для современной гидробиологии. Определение особенностей энергетического и пластического обмена морских гидробионтов, в частности черноморских мидий, на различных этапах жизненного цикла составляет важную часть этих исследований.

Определение интенсивности дыхания и экскреции аммонийного азота (преобладающего конечного продукта белкового катаболизма мидий) является наиболее доступным и надежным способом изучения интенсивности энергетического и азотистого обмена. Соотношение потребленного кислорода и выделенного аммонийного азота – аммонийный коэффициент (O/N) – позволяет определить долю белковых и небелковых (углеводных и липидных) субстратов в энергетическом катаболизме мидий (Строганов, 1956; Шульман и др., 1993).

Результаты предыдущих исследований показали, что эти характеристики являются хорошими индикаторами состояния, как самих мидий, так и степени влияния на них таких внешних факторов, как температура, обеспеченность пищей, сезоны года и др. (Ивлева, 1981; Горомосова, Таможняя, 1986; Слатина, 1988, 1991; Segawa, 1991; Tremblay et al., 1998). Кроме того, на взрослых (половозрелых) черноморских мидиях было показано, что потребление кислорода и экскреция азота могут отличаться на протяжении суток (Слатина, 1990, 1991). Одним из факторов, вызывающим суточную изменчивость исследуемых показателей, является смена светлого и темного времени суток, т.е. изменение степени освещенности.

К сожалению, при большом разнообразии исследований черноморских мидий доля работ, посвященных изучению молодежи этих моллюсков, очень невелика. Выпал из внимания исследователей важнейший этап жизненного цикла черноморской мидии, связанный с быстрым ростом и развитием моллюсков. Таким образом, проведение комплексного исследования особенностей энергетического и азотистого метаболизма у молодежи черноморской мидии представляет несомненный интерес для современной экологии морских гидробионтов.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Выполненная работа является частью проводимых в отделе физиологии животных исследований по комплексной программе «Биология океана» и выполнялась по госбюджетным темам: «Эколого-физиологические и физиолого-биохимические основы существования популяций животных в сообществах и экосистемах Черного моря» (№ 01.9.10.056168, 1991-1995 гг.) и «Метаболические основы существования массовых видов беспозво-

ночных и рыб в условиях меняющегося режима Черного моря» (№ 0196U022102, 1996-1998 гг.).

Цель и задачи исследования. Цель настоящего экспериментального исследования заключалась в выявлении эколого-физиологических и эколого-биохимических особенностей жизнедеятельности неполовозрелых черноморских мидий. Для этого необходимо было решить следующие задачи:

изучить динамику потребления кислорода и экскреции аммонийного азота на протяжении всех сезонов года и сопоставить эти показатели с меняющимися внешними условиями;

установить суточные изменения уровней потребления кислорода и выделения конечных продуктов азотистого метаболизма;

определить степень влияния различных световых режимов на метаболические процессы молодежи мидий.

Для расширения диапазона исследования была поставлена также дополнительная задача - определить показатели белкового анаболизма - содержание РНК и индекс РНК/ДНК, характеризующие интенсивность белкового биосинтеза.

Научная новизна полученных результатов. Впервые проведено комплексное исследование особенностей энергетического и пластического обмена у неполовозрелых особей черноморской мидии на протяжении всех сезонов года. Это позволило выявить высокую степень сопряженности энергетического и азотистого метаболизма. Впервые показана обратная взаимосвязь белкового анаболизма с белковым и энергетическим катаболизмом.

Изучен практически весь годовой диапазон температур, с которым сталкиваются моллюски в естественной среде обитания. Определены температурные зависимости интенсивности потребления кислорода, аммонийной экскреции, индекса O/N у молодежи мидий. Установлено, что крайние низкие и высокие температуры морской воды приводят к увеличению доли белковых субстратов в энергообмене. Показана высокая тепловая толерантность молодежи мидий.

Впервые проведены исследования суточной изменчивости метаболических показателей у молодежи мидий при естественных и экспериментальных световых режимах. Показана тенденция к увеличению дыхания и снижению азотистой экскреции в темное время суток. При этом происходит сдвиг типов энергетического обмена с использования углеводно-липидных субстратов в ночные часы на липидно-белковые и белковые в дневное время.

Практическое значение полученных результатов. Примененные в работе методические подходы и показатели энергетического и пластического обмена могут быть использованы для индикации состояния моллюсков в естественной среде обитания, мариккультуре, а также в условиях

эксперимента. Одновременная регистрация интенсивности дыхания и выделения конечных продуктов обмена, динамики содержания нуклеиновых кислот позволяет наиболее полно судить о направленности метаболических процессов организма, о степени влияния различных внешних, в том числе и неблагоприятных, факторов среды.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием. Лично автором разработаны схема работы и проведены все эксперименты, линейные и весовые промеры изучаемых мидий, все гидрохимические и биохимические анализы и интерпретация полученных результатов.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались автором на семинарах отдела физиологии животных ИнБИОМ (1991-1993 гг.), II Съезде Украинского Гидроэкологического Общества (г. Киев, 27-31 октября 1997 г.), Научной конференции "Водные организмы и экосистемы" (Москва, 19-20 апреля 1999 г.), заседании Крымского отделения Украинского Гидроэкологического Общества (Севастополь, 12 сентября 1999 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ - 4 статьи в ведущих научных специализированных журналах, рекомендованных ВАК Украины, 2 тезисов докладов в материалах съезда и конференции.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста, состоит из вступления, 4 разделов, выводов и списка использованных литературных источников. Текст содержит 9 таблиц и 19 рисунков. Список использованных источников включает 223 наименований, в том числе 137 работ иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В этом разделе проанализированы данные различных авторов об особенностях энергетического и азотистого обмена у морских гидробионтов, и в частности у двустворчатых моллюсков рода *Mytilus*. Дана характеристика эколого-физиологических и эколого-биохимических особенностей черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. в связи с обитанием в Черном море, указаны границы экологической толерантности моллюсков. Рассмотрено влияние различных внешних факторов (температура, обеспеченность пищей, освещенность, сезон года) на интенсивность энергетических (дыхание, выделение) и ростовых (белковый синтез) процессов морских гидробионтов. Как правило, эти процессы изучаются раздельно и часто фрагментарно, не всегда учитываются особенности сезонных изменений. Большинство работ посвящены изучению физиологии

взрослых моллюсков в связи с процессами созревания половых продуктов и нереста.

Анализ литературных данных показал очевидный недостаток как в комплексных физиологических исследованиях черноморских мидий вообще, так и молодых (неполовозрелых) мидий, в частности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКИ

Экспериментальную часть работы проводили в течение 1991-1993 гг. с охватом всех сезонов года. Объектом служили неполовозрелые мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. Для характеристики энергетического и пластического обмена определяли следующие показатели: интенсивность потребления кислорода, интенсивность экскреции аммонийного азота, содержание в мягких тканях нуклеиновых кислот (РНК, ДНК), а также в качестве фоновой характеристики - содержание белка. Рассчитаны аммонийный коэффициент O/N и индекс белкового синтеза РНК/ДНК.

В ходе исследования было проведено 16 сборов мидий со швартовой бочки в открытой части моря (траверз пос. Кача, район Севастополя), поставлено 52 эксперимента в двух сериях опытов: односуточные (1991-1992 гг.) и многосуточные - 15 суток (1993 г.).

Перед проведением экспериментов мидий аккуратно очищали от обрастания и отбирали экземпляры с длиной створки 18-20 мм. Сырая масса моллюсков со створками составила 0,55-0,60 г. Для адаптации к лабораторным условиям моллюсков выдерживали одни сутки в проточных аквариумах со скоростью тока морской воды 120 л/ч. Через сутки в 5 респирометров объемом 260-265 мл помещали по одному экземпляру мидий. Контролем служила морская вода в таких же сосудах, но без животных. В опытах использовали профильтрованную "10-тимильную" морскую воду. Температурные условия в опытах соответствовали температурам среды обитания на момент сбора мидий. Диапазон температур на протяжении всего периода исследований составил от 6°C до 23°C.

В респирометрах в течение 24 часов находились одни и те же моллюски. Экспозиция зависела от сезонной температуры морской воды: летом при $t^{\circ}=22-23^{\circ}\text{C}$ - 3,5 часа; весной и осенью при $t^{\circ}=12-19^{\circ}\text{C}$ - 5,5 часа; зимой при $t^{\circ}\text{C}=6-9^{\circ}\text{C}$ - 7,5 часа. Экспозиция была выбрана таким образом, чтобы содержание кислорода в респирометре не снижалось более чем на 30% от первоначального уровня (Брайко, 1979). После каждого отбора проб морской воды для определения содержания кислорода и аммонийного азота в респирометры наливали свежую отфильтрованную воду. Одновременно отбирали моллюсков (в количестве 5 экземпляров на каждый показатель) для определения содержания белка и нуклеиновых кислот. По окончании экспериментальных суток у мидий из респирометров определяли сырую и сухую массу.

Две серии 15-ти дневных экспериментов проводили при трех световых режимах: естественная смена освещенности в течении суток; непрерывная освещенность в течение суток (24С:00Т); непрерывная затемненность в течение суток (00С:24Т). Для этого использовали лампы накаливания ($E=1500-2000$ лк) и специальные светонепроницаемые экраны. Освещенность определяли люксметром Ю-16. Температура морской воды в первом эксперименте (условно названном зимним) составила $6-9^{\circ}\text{C}$, во втором (условно названном летним) – $19,4-20,2^{\circ}\text{C}$. На каждые пятые сутки осуществляли отбор проб, применяя схему односуточных экспериментов. Для контроля за состоянием мидий в многосуточных экспериментах использовали данные по динамике сырой и сухой массы их тела (без раковин), содержанию белка. Все весовые показатели оставались на постоянном уровне.

Содержание кислорода определяли по методу Винклера (Справочник гидрохимика, 1991), интенсивность дыхания моллюсков выражали в $\text{мл}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$. Определение содержания аммонийного азота проводили по методу Сэджи-Солорзано (там же), интенсивность экскреции моллюсков выражали в $\text{мг}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$. Рассчитывали аммонийный коэффициент O/N (Строганов, 1956), используя атомное соотношение потребленного кислорода и выделенного азота. Содержание белка определяли биуретовым методом (Практикум по биохимии, 1979), выражали в $\text{мг}\cdot\text{г}^{-1}$ (сырой или сухой массы). Количество РНК и ДНК в тканях мидий определяли спектрофотометрически, применяя метод разностей экстинций (там же), выражали в % сухой массы.

Результаты исследований обработаны статистически: определяли средние арифметические (M), стандартные отклонения (σ), стандартные ошибки (m), доверительные интервалы (Δx), рассчитаны коэффициенты корреляции (r), достоверность различий (P), коэффициенты вариабельности полученных данных (CV)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сезонная динамика исследованных показателей метаболизма. Полученные результаты показали, что интенсивность потребления кислорода молодью мидий изменяется с низкого уровня в феврале ($0,27$ $\text{мл}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$) до максимальных значений в летние месяцы ($1,6$ $\text{мл}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$), а затем снижается к октябрю ($0,7$ $\text{мл}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$) (табл.1). Динамика экскреции аммонийного азота у молодки мидий практически совпадает с сезонными изменениями интенсивности дыхания. В весенне-летний период выделение конечных азотистых продуктов значительно повышается. Значения данного показателя изменяются от $0,022$ до $0,091$ $\text{мг}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$.

Таблица 1.

Динамика исследованных показателей у неполовозрелых мидий

Год	Месяц	T, °C	Количество определений	O ₂ , мл·г ⁻¹ ·ч ⁻¹ (M±m)	NH ₃ -N, мг·г ⁻¹ ·ч ⁻¹ (M±m)	Индекс O/N (M±m)	РНК, % сух. массы (M±m)	ДНК, % сух. массы (M±m)	Индекс РНК/ДНК (M±m)
1991	июнь	21,5-22	60/62*	1,43±0,03	0,075±0,004	38,3±1,5	0,49±0,02	0,04±0,002	13,6±0,1
	июль	23	30/32	1,57±0,04	0,091±0,002	33,6±2,0	0,46±0,02	0,04±0,002	11,8±0,6
	октябрь	12,5-13	20/24	0,70±0,05	0,040±0,003	43,6±4,4	0,65±0,02	0,03±0,001	24,5±1,1
	ноябрь	13-13,5	40/45	1,0±0,01	0,049±0,002	42,9±4,8	-	0,02±0,001	-
1992	февраль	5,7-6	30/37	0,28±0,01	0,026±0,001	34,0±1,8	0,66±0,04	0,03±0,001	27,6±2,4
	март	6	15/20	0,33±0,01	0,029±0,002	24,4±0,9	0,56±0,04	0,02±0,002	33,2±3,7
	май	13,5-14	60/65	0,80±0,02	0,038±0,003	38,5±0,8	0,55±0,02	0,03±0,003	29,0±1,8
1993	март	6-7	112/167	0,74±0,02	0,023±0,001	42,2±1,6	0,87±0,02	0,07±0,003	14,6±0,5
	апрель	9	41/57	1,02±0,07	0,060±0,004	29,0±1,5	0,96±0,03	0,07±0,002	14,6±0,6
	май	19,4-20	52/65	1,14±0,04	0,034±0,002	71,5±3,2	0,51±0,02	0,03±0,001	15,7±0,4
	июнь	20,2	148/187	1,11±0,02	0,040±0,002	51,1±1,2	0,54±0,01	0,02±0,001	23,9±0,5

*Примечание: в числителе – количество определений O₂, NH₃-N, O/N;
в знаменателе – количество определений РНК, ДНК, РНК/ДНК

Что касается сезонных изменений аммонийного коэффициента O/N, то они находятся в пределах 24-72. Это свидетельствует об использовании смешанных типов субстратов в энергетическом катаболизме, в которых, очевидно, преобладают углеводы (Проссер, Браун, 1967; Шульман и др., 1993).

На протяжении всего периода исследования содержание РНК в мягких тканях мидий изменяется, в основном, в пределах 0,46-0,66% сухой массы; а ДНК- 0,02-0,04% сухой массы. Исключение составляют данные для марта-апреля 1993 г., когда соответствующие величины были выше (0,96% и 0,07%). Индекс РНК/ДНК на протяжении года изменяется от 11,8 до 33,2 (табл.1).

Полученные результаты позволили сопоставить уровни энергетического (по потреблению кислорода) и азотистого (по экскреции аммонийного азота) катаболизма между собой. Анализ показал четко выраженную сопряженность у молодежи мидий этих двух важнейших метаболических процессов ($r=0,82$, $P<0,01$). Впервые удалось сопоставить две фазы белкового метаболизма - анаболическую (по индексу РНК/ДНК) и катаболическую (по экскреции конечных азотистых продуктов) ($r=-0,62$, $P<0,05$). Оказалось, что эти процессы находятся в "противофазе" друг к другу. Анализ показал также отрицательную корреляцию между энергетическим катаболизмом и белковым анаболизмом ($r=-0,78$, $P<0,01$).

Связь метаболизма с температурой морской воды. С повышением температуры среды интенсивность дыхания у молодежи мидий возрастает ($r=0,85$, $P<0,001$) (рис.1.а). Температурные коэффициенты Q_{10} ($6-13^{\circ}\text{C}$)=1,95, $Q_{10}(13-23^{\circ}\text{C})=2,06$. Изменения интенсивности выделения аммонийного азота также тесно связаны с сезонными температурами ($r=0,69$, $P<0,05$) (рис.1.б). Коэффициенты $Q_{10}(6-13^{\circ}\text{C})=1,56$, $Q_{10}(13-23^{\circ}\text{C})=1,60$. Более низкий Q_{10} азотистой экскреции по сравнению с Q_{10} потребления кислорода свидетельствует о большей консервативности азотистого (белкового) обмена в условиях меняющихся внешних факторов. Это подтверждается и данными, полученными на позвоночных животных (Шульман, 1972; Shulman, Love, 1999).

Температурная зависимость аммонийного коэффициента O/N носит более сложный характер (рис.1.в). Повышение температуры с 6°C до 20°C приводит к росту индекса O/N (до 71,5). Это свидетельствует о том, что с увеличением температуры в толерантном для черноморских мидий диапазоне растет использование в энергообмене безбелковых (прежде всего углеводных) субстратов. Однако, при температурах выше 20°C происходит резкое снижение индекса O/N, что говорит о смене направленности энергетического катаболизма. При этом роль белков в качестве энергетических субстратов возрастает с 12% при 20°C до 25-30% при 23°C

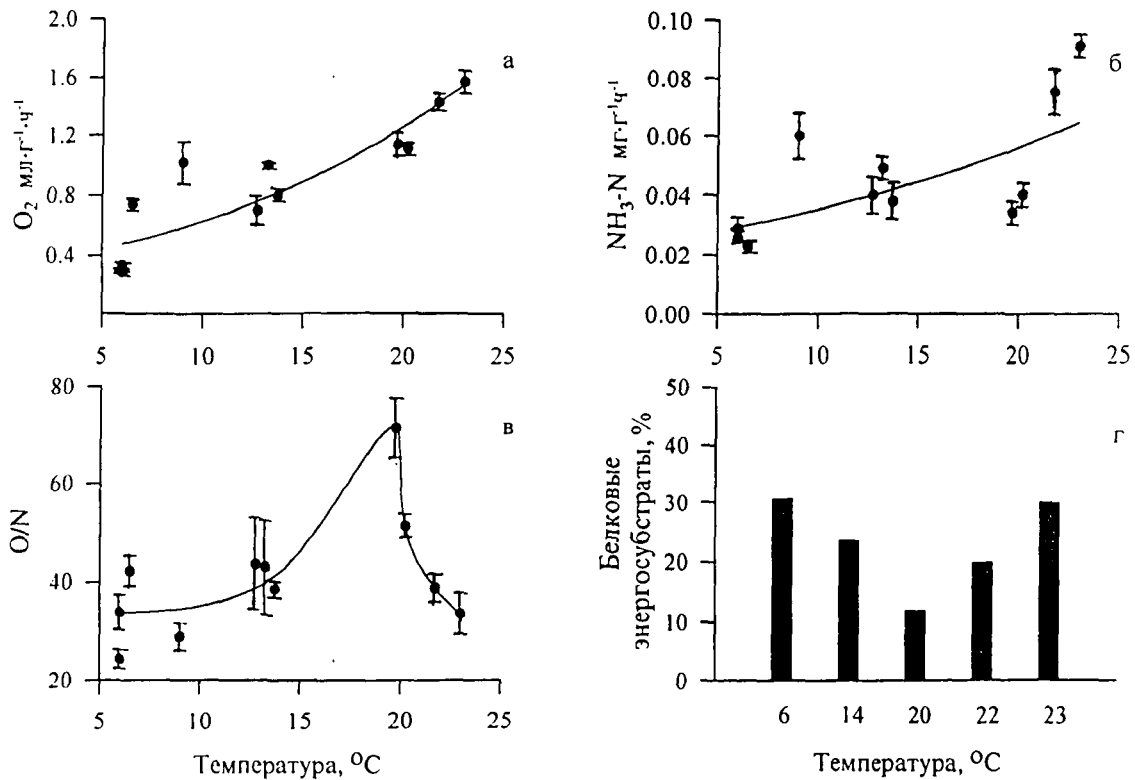


Рис. 1. Зависимость потребления кислорода (а), экскреции аммонийного азота (б), индекса O/N (в) и использования белковых энергосубстратов (г) от температуры морской воды (указаны доверительные интервалы).

(рис.1.г). Кроме того, усиленный белковый катаболизм у молодежи мидий наблюдается и в условиях низких температур (6-7⁰С). Интенсивность белкового синтеза (значения индекса РНК/ДНК) снижается при высоких температурах (свыше 20⁰С).

Суточные изменения исследованных показателей метаболизма. Во все сезоны года, кроме лета, в темное время суток интенсивность потребления кислорода увеличивается ($P < 0,05$) (рис.2.а), а интенсивность экскреции азота значительно снижается ($P < 0,01$) (рис.2.б). В летние месяцы потребление кислорода и экскреция азота оставались высокими и достоверно в течение суток не изменялись. Высокие летние температуры морской воды (свыше 21⁰С), вероятно, вызывают интенсификацию всех физиологических систем моллюсков, поэтому "краткосрочные" изменения исследуемых показателей в этот сезон года выражены слабее. Понижение температуры позволяет более четко проявиться суточной ритмике в другие сезоны. В экспериментах на *M.edulis* выявлено существование сильного межфакторного взаимодействия между температурой и продолжительностью светового дня (Брегман, Сидоренко, 1979).

"Противофазность" дыхания и экскреции азота у сеголетков мидий на протяжении суток становится особенно наглядной при анализе изменений аммонийного коэффициента О/Н (рис.2.в). Во все сезоны года, за исключением летнего, наблюдается рост значений О/Н в темноте и снижение в светлое время ($P < 0,05$). Это означает, что происходит сдвиг типов энергообмена с использования углеводно-липидных субстратов в ночные часы на белковые или белково-липидные субстраты днем. Содержание РНК, ДНК и индекс РНК/ДНК в течение суток достоверно не изменялись ($P > 0,05$).

Показатели уровня метаболизма и физиологического состояния мидий в условиях различных световых режимов. Полученные нами результаты показали, что среднесуточная интенсивность дыхания и выделения аммонийного азота у молодежи мидий в условиях длительной (15-ти дневной) освещенности (24С:00Т) и длительной темноты (00Т:24С) между собой и контролем (естественной смены светлого и темного времени суток) достоверно не различались. На 5-е, 10-е и 15-е сутки наблюдалось изменение суточной ритмики исследуемых показателей. Однако, эти изменения не были закономерными. Влияние примененных световых режимов на интенсивность белкового синтеза (значения индекса РНК/ДНК) отсутствовало.

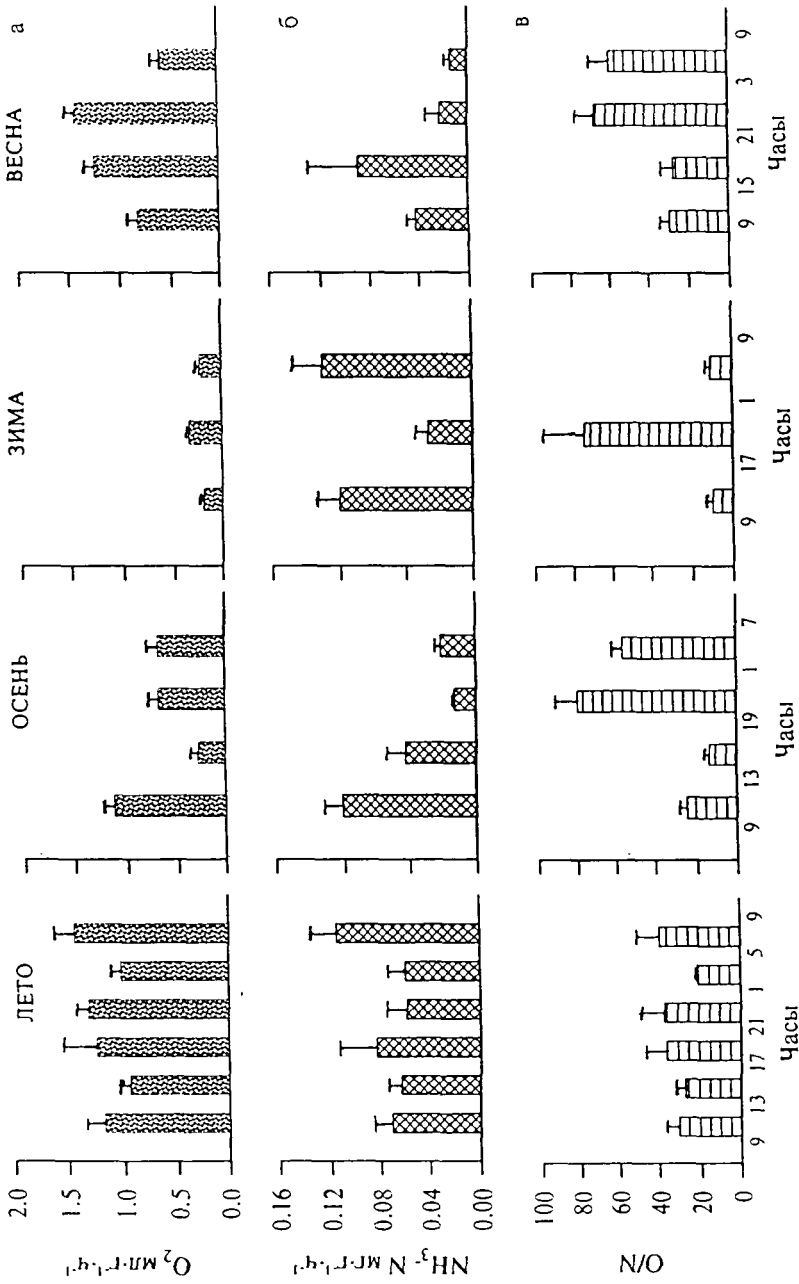


Рис. 2. Суточные изменения потребления кислорода (а), экскреции аммонийного азота (б), индекса O/N (в) у моллюды мидий в различные сезоны года (указаны средние квадратичные ошибки).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Особенности метаболизма молодежи мидий. Очевидно, что энергозатраты неполовозрелых моллюсков, в основном связаны с поддержкой функциональной активности организма, а также с интенсивным соматическим и линейным ростом. Сезонные изменения потребления кислорода и экскреции аммонийного азота достаточно велики, достигая одного годового максимума в весенне-летний период. Очевидно, что все указанные изменения дыхания и выделения азота у молодежи мидий в основном связаны с температурными изменениями морской воды. Об этом говорят высокие коэффициенты корреляции потребления кислорода ($r=0,85$, $P<0,001$) и экскреции азота ($r=0,69$, $P<0,05$) с динамикой температуры. У взрослых черноморских мидий отмечены два пика интенсивности дыхания (весенний и осенний), совпадающие с периодами созревания и выметывания половых продуктов (Брайко, 1979; Тимофеев, 1986). При этом влияние интенсивности генеративных процессов на увеличение уровня дыхания настолько велико, что оно превалирует над влиянием меняющихся температур (Слатина, 1990).

Для взрослых черноморских мидий установлен оптимальный температурный режим в пределах 12-18°C (Крук, 1986; Золотницкий, 1986; Печень-Финенко, 1987). Температура свыше 20-22°C является критической. Однако, при температурах воды 22-23°C молодежь мидий продолжала интенсивно дышать и выделять азот. Это свидетельствует о более широкой тепловой толерантности неполовозрелых моллюсков по сравнению с половозрелыми. В литературе есть сведения об устойчивости молодежи двустворчатых моллюсков к высоким температурам: *Dreissena polymorpha* (McMahon et al., 1994; Aldridge et al., 1995); *Cerastoderma edule* и *Mytilus edulis* (Bayne, Newell, 1983; Hawkins et al., 1987).

Литературные данные для половозрелых мидий отмечают несоответствие в различные периоды года максимумов потребления кислорода и экскреции конечных азотистых продуктов (Слатина, 1990). Так, по мере созревания гонад интенсивность дыхания увеличивается и сокращается выделение аммонийного азота, вследствие того, что азот используется для усиления синтеза аминокислот (Bayne, Scullard, 1977; Горомосова, Шапиро, 1984). Выявленная в нашем исследовании тесная сопряженность двух важнейших метаболических процессов - дыхания и экскреции ($r=0,82$, $P<0,01$) - является особенностью физиологии неполовозрелых мидий. На протяжении года изменения интенсивности энергетического и азотистого катаболизма однонаправлены, хотя и не одинаковы по своей величине.

Количественные различия в ходе сезонных изменений двух сравниваемых характеристик отражаются на значениях их атомного соотношения - индекса O/N. Известно, что при $O/N>20$ в качестве основных энергетических субстратов используются липиды и углеводы, а при $O/N<20$ - белки

(Строганов, 1956; Шульман и др., 1993). Повышение температуры с 20°C до 23°C приводит к увеличению доли белковых энергосубстратов с 12% до 25-30%. В исследованиях, проведенных на рыбах, установлено, что при температурах на верхней границе толерантности резко усиливаются процессы белкового катаболизма и дезаминирования аминокислот (Арсан, 1987; Коновец, 1994). В нашем исследовании было показано, что неполовозрелые мидии могут использовать белок в энергообмене не только при высоких, но и при низких температурах. Таким образом, усиление белкового катаболизма является своеобразной компенсаторной реакцией организма мидий в условиях крайних температур.

Наряду с этим следует учитывать, что у двустворчатых моллюсков резкое снижение значений индекса O/N может быть вызвано трофическим стрессом (Bayne et al., 1981, 1983). У *Mytilus galloprovincialis* повышение температуры до 22°C приводит к угнетению процесса фильтрации более, чем на 50% (Крук, 1986; Красота, 1986; Печень-Финенко, 1987, 1992). Возможно, что моллюски для "смягчения" пищевого стресса, возникающего в условиях высоких температур, могут использовать белковый катаболизм.

Известно, что у мидий Черного моря при высоких значениях температуры (свыше 20°C) темп роста резко замедляется (Иванов, 1967). Нами установлено, что при 20-23°C интенсивность белкового синтеза в мягких тканях у молодежи мидий снижается. Индекс РНК/ДНК составляет 11,8-13,6, в то время как при оптимальных температурах он значительно выше.

По сравнению с сезонными изменениями содержания нуклеиновых кислот (РНК, ДНК) в мягких тканях у взрослых моллюсков, у молодежи мидий эти изменения незначительны. По литературным данным (Щербань, 1995), у половозрелых мидий максимальное количество РНК приходится на преднерестовые летний и зимний периоды, динамика содержания ДНК в тканях носит полициклический характер с ярко выраженными 4-мя годовыми максимумами.

По результатам нашего исследования удалось сопоставить две фазы белкового метаболизма у молодежи мидий - анаболическую (по индексу РНК/ДНК) и катаболическую (по уровню экскреции аммонийного азота) ($r = -0,62$, $P < 0,05$). Эта обратная зависимость свидетельствует о том, что белковый анаболизм и белковый катаболизм могут "конкурировать" друг с другом, распределяя поступающую в организм экзогенную пищу или накопленные в организме резервы (эндогенную пищу) по двум каналам. При достаточном ее накоплении связь может быть положительной, при недостатке - отрицательной. Но характер этой зависимости может быть связан не только с пищевым фактором, а и с направленностью метаболизма в различные периоды годового цикла. У взрослых мидий, например, в одни периоды (созревание половых продуктов) преобладают анаболические процессы, в другие (нерест) - белковый катаболизм (Слатина, 1990;

Щербань, 1992). У молодежи моллюсков рассматриваемая отрицательная взаимосвязь может быть обусловлена влиянием внешних факторов (например, когда высокие летние температуры морской воды по-разному воздействуют на анаболические и катаболические процессы).

Интенсивность белкового синтеза у молодежи мидий тесно связана не только с интенсивностью белкового катаболизма, но и с тратами энергии на обмен, находясь с ними в "противофазе" ($r = -0,78$, $P < 0,01$).

Суточная динамика исследованных показателей у молодежи мидий. Периодичность функций морских гидробионтов в течение суток является следствием закономерно меняющегося ритма условий окружающей среды. Максимальное потребление кислорода молодежью мидий во все сезоны года, кроме летнего, наблюдалось в темное время суток (приблизительно с 21 до 1-2 часов) ($P < 0,05$). Боровинский (1986) для черноморских мидий с длиной створки до 20 мм указывает два максимума дыхания - дневной (12-16 часов) и ночной (24-2 часов), причем ночной пик был более выражен. У взрослых моллюсков двух близких видов мидий также отмечена повышенная интенсивность дыхания в темное время суток - *M. edulis* (Nielsen, Stromgren, 1985) и *M. galloprovincialis* (Слатина, 1990, 1991). Кроме того, для двустворчатых морских моллюсков в темное (ночное) время характерно: максимальное раскрытие створок у *M. galloprovincialis* (Слатина, 1988), *M. edulis* (Амеяв-Акумфи, Naylon, 1987; Fujii, Toda, 1991; Newell, Gallagher, 1992), *Macoma balthica* (Soerlin, 1988), *Anadonta anatina* (Englund, Heino, 1994); более высокая фильтрационная активность - *M. galloprovincialis* (Иванов, 1948); линейный прирост - *M. edulis* (Nielsen, Stromgren, 1985) и выделение фекалий и псевдофекалий - *M. edulis* (Tsuchiya, 1980).

Интенсивность экскреции аммонийного азота молодежью мидий в большинстве случаев увеличивалась в дневное время весной, осенью и зимой ($P < 0,01$). У взрослых особей черноморских мидий интенсивность аммонийной экскреции претерпевает заметные колебания в течение суток (Слатина, 1990). При этом, каждому периоду годового цикла соответствует свой суточный ритм экскреции азота, что связано с репродуктивными и ростовыми процессами. Но, независимо от характера этих изменений в азотистом обмене, максимумы выделения наблюдались в светлое время.

Таким образом, у молодежи мидий наблюдается суточная динамика интенсивности потребления кислорода (максимумы в ночные часы) и экскреции аммонийного азота (максимумы в дневные часы).

Рост значений индекса O/N наблюдался в темное время суток ($P < 0,05$), а затем происходило их снижение в дневные часы. У молодежи мидий в ночные часы в энергетическом метаболизме используются 12-19% белковых субстратов, а днем этот процент может увеличиваться до 60-80%. Наиболее четко это проявляется в осенний и зимний сезоны. В летнее

время тип обмена практически не менялся, сохраняя, в основном, углеводно-липидную энергооснову. Преимущественное использование безбелковых субстратов молодью мидий в темное время совпадает со временем увеличения дыхания, фильтрации (Иванов, 1948), повышенной мышечной нагрузкой, связанной с движением створок (Слатина, 1988; Ateuaw-Akumfi, Naylon, 1987; Fujii, Toda, 1991). В утренние и дневные часы у мидий резко сокращаются периоды раскрытия створок, при этом потребление кислорода снижается более чем на 25% (Слатина, 1988; Newell, Gallagher, 1992). Внутри раковины наступают условия близкие к анаэробным, иными словами, "внутренняя" гипоксия. Как известно, в гипоксических условиях мидиям свойственно переходить на белковый катаболизм, что приводит к увеличению экскреции конечных азотистых продуктов.

Влияние различных световых режимов на исследованные показатели. Известно, что влияние световых условий в большой степени зависит от возраста, физиологического состояния моллюсков (например, созревание половых продуктов (Devauchelle et al., 1995), формирование мягких тканей (Chalfant et al., 1980), образование раковинной пигментации у постличинок мидий (Trevelyan, Chang, 1987; Trevelyan, 1988).

Отсутствие влияния световых условий на показатели интенсивности энергетического и азотистого метаболизма, белкового синтеза (индекс РНК/ДНК), по-видимому, объясняется тем, что моллюски с линейными размерами 18-20 мм и с приблизительным возрастом в 3-6 месяцев - это организмы, у которых процессы дифференцировки соматических тканей, в основном, завершены, а генеративных тканей - еще не начаты. Превалирующим процессом на этой стадии у молодежи мидий является рост соматических тканей, который не реагирует на искусственные изменения продолжительности светового дня.

ВЫВОДЫ

1. У неполовозрелых мидий, в отличие от половозрелых, наблюдается сопряженность дыхания (траты энергии на обмен) и выделения конечных азотистых продуктов (белковый катаболизм).
2. Потребление кислорода и экскреция аммонийного азота у молодежи мидий значительно изменяются в течение года с одним максимумом - в летнее время (в отличие от половозрелых моллюсков), и находятся в тесной связи с сезонными изменениями температуры морской воды.
3. Неполовозрелые черноморские мидии обладают большей тепловой толерантностью по сравнению с взрослыми моллюсками.
4. В зоне толерантности (12-20⁰С) в энергетическом обмене у молодежи мидий используются небелковые (углеводно-липидные) субстраты. При

температурах выше 20⁰С и ниже 10⁰С возрастает удельный вес белкового катаболизма (с 12% до 25-30%).

5. У молодежи мидий наблюдается обратная зависимость между интенсивностью белкового анаболизма (индекс РНК/ДНК) и катаболизма (экскреция аммонийного азота), а также белкового анаболизма и тратами энергии на обмен.

6. У молодежи мидий наблюдается суточная динамика потребления кислорода (максимальна в ночные часы) и экскреции аммонийного азота (максимальна в дневное время суток). В течение суток происходит смена типов энергетического метаболизма с использования безбелковых (углеводно-липидных) субстратов в ночные часы на липидно-белковые и белковые субстраты в дневное время. Понижение температуры морской воды позволяет более четко проявиться суточной ритмике исследуемых показателей.

7. Влияния экспериментальных световых условий (полная освещенность и полная темнота) на интенсивность потребления кислорода, экскреции азота и индекса РНК/ДНК у неполовозрелых мидий не обнаружено. Однако, изменение светового фактора приводит к изменению суточной ритмики показателей энергетического и азотистого метаболизма мидий.

8. Исследованные метаболические показатели - интенсивность потребления кислорода, экскреции аммонийного азота, аммонийный индекс O/N, содержание рибонуклеиновых кислот и индекс РНК/ДНК могут быть использованы для оценки состояния мидий, как в естественной среде обитания, так и в условиях марикультуры.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Вялова О.Ю. Особенности энергетического метаболизма неполовозрелых черноморских мидий // Доповіді НАНУ.- 1998.- №7.- С. 179-182.
2. Вялова О.Ю. Особенности азотистого метаболизма неполовозрелых черноморских мидий // Доповіді НАНУ.- 1998.- №9.-С. 191-194.
3. Вялова О.Ю. Суточные изменения метаболизма у неполовозрелых мидий *Mytilus galloprovincialis* Черного моря // Экология моря. - 1999.- Вып.48.- С. 31-34.
4. Вялова О.Ю. Сезонные изменения содержания нуклеиновых кислот у молодежи черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. - 1999.- Вып. 49.- С.36-38.
5. Вялова О.Ю. Особенности энергетического и азотистого метаболизма неполовозрелых черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* // Труды II Съезда Гидробиол. общ-ва Украины. - Т.2.- К.: - 1997.- С. 79.

6. Вялова О.Ю. Сезонные изменения показателей роста у молодежи черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* // Материалы науч. конф. "Водные организмы и экосистемы". - Москва: МГУ. - 1999.- С. 26.

Вялова О.Ю. Особенности энергетического и азотистого метаболизма неполовозрелых черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в условиях эксперимента. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.17 - гидробиология.- Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, 2000.

Исследованы особенности сезонных и суточных изменений потребления кислорода, экскреции аммонийного азота, использования энергетических субстратов у неполовозрелых черноморских мидий. Выявлена высокая сопряженность энергетического и азотистого метаболизма у молодежи мидий, что не характерно для половозрелых моллюсков. Показано, что сезонная динамика дыхания и выделения азота у неполовозрелых моллюсков тесно связана с температурными изменениями морской воды. Молодые мидии обладают большей тепловой толерантностью по сравнению с взрослыми моллюсками. При крайних высоких и низких температурах у молодежи мидий происходит увеличение доли белкового катаболизма, что является компенсаторной реакцией организма в неблагоприятных условиях.

У неполовозрелых мидий наблюдается обратная взаимосвязь между интенсивностью белкового анаболизма, с одной стороны, и белковым катаболизмом и тратами энергии на обмен, с другой стороны, что обусловлено различным влиянием температуры на рассматриваемые метаболические процессы.

Интенсивность дыхания у молодежи мидий максимальна в темное время суток, тогда как интенсивность экскреции аммонийного азота минимальна, что связано с особенностями жизнедеятельности бентосных моллюсков. При этом наблюдается сдвиг типов энергетического обмена с использованием безбелковых (углеводно-липидных) субстратов в ночные часы на липидно-белковые и белковые субстраты в дневное время. Экспериментальное изменение светового фактора приводит к изменению суточной ритмики показателей энергетического и азотистого метаболизма.

Ключевые слова: черноморские мидии, потребление кислорода, экскреция аммонийного азота, индекс O/N, индекс РНК/ДНК, температура, суточная ритмика, световой фактор.

Вялова О.Ю. Особливості енергетичного та азотистого метаболізму статевонезрілих чорноморських мідій *Mytilus galloprovincialis* Lam в умовах експерименту.- Рукопис.

Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.17 - гідробіологія.- Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь, 2000.

Досліджено особливості сезонних та добових змін споживання кисню, екскреції амонійного азоту, використання енергетичних субстратів у статевонезрілих чорноморських мідій. Сезонна динаміка дихання та виділення азоту обумовлена температурними змінами морської води. При крайніх високих та низьких температурах у молоді мідії зростає частка білкових субстратів, що використовуються в енергообміні.

Показано тісний взаємозв'язок енергетичного і азотистого метаболізму. Виявлено зворотну кореляцію білкового анаболізму і білкового катаболізму.

Добова динаміка дихання, екскреції амонійного азоту та індекса O/N у молоді мідії пов'язана з особливостями життєдіяльності бентосних молосків. При цьому спостерігається зрушення життєдіяльності енергетичного обміну з використання безбілкових (вуглеводно-ліпідних) субстратів у нічні години на ліпідно-білкові та білкові субстрати у денну пору.

Ключові слова: чорноморські мідії, споживання кисню, екскреція амонійного азоту, індекс O/N, індекс РНК/ДНК, температура, добова ритміка, світловий чинник.

Vyalova O.Y. Features of energy and nitrogen metabolism in unmaturred Black Sea mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam. at experimental conditions. - Manuscript.

The dissertation work to obtain a degree of Candidate of Biological Sciences on speciality 03.00.17 - hydrobiology.- Institute of Biology of the Southern Seas, National Ukrainian Academy of Sciences, Sevastopol, 2000.

Seasonal and daily changes of oxygen consumption, ammonia excretion and utilization of metabolic substrates in unmaturred Black Sea mussels were investigated. Seasonal dynamics of respiration and nitrogen excretion were due to temperature changes of sea water. At extreme higher and lower temperatures in young mussels increased part of protein used in energy metabolism was observed. The clear relationship between energy metabolism and nitrogen metabolism has been shown. Negative correlation between protein anabolism and protein catabolism has been obtained also.

Daily changes of rate of respiration, rate of ammonia excretion and O/N ratio in unmaturred mussels were result from character of vital functions of benthic molluscs. In this case changes from carbohydrate-lipid energy metabolism in dark time to lipid-protein and protein-based metabolism in light time.

Key words: Black Sea mussels, oxygen consumption, ammonia excretion, O/N ratio, RNA/DNA ratio, temperature, daily rhythm, light.