

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи
УДК 594.124:591.134 (262.5)

Щ Е Р Б А Н Ъ
СВЕТЛАНА АЛЕКСАНДРОВНА

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ РОСТА ЧЕРНОМОРСКОЙ
МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

03.00.18 - гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

С.-Петербург - 1995

ОД
17 АПР 1995

Работа выполнена в Институте биологии южных морей
им. А.О.Ковалевского РАН Украины

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор Г.Е.Шульман

Научный консультант: кандидат биологических наук
Г.И.Аболмасова

Официальные оппоненты : доктор биологических наук,
профессор В.В. Хлебович
кандидат биологических наук
Н.В. Максимович

Ведущее учреждение : Южный научно-исследовательский
институт морского рыбного хо-
зяйства и океанографии
(ЮНИРО)

Защита диссертации состоится "24" мая 1995 г. в "14"
на заседании специализированного совета Д 002.63.01 по защите
диссертаций на соискание ученой степени доктора наук при Зооло-
гическом институте РАН (199034, Санкт-Петербург, Университет-
ская наб., 1).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Зоологического
института РАН

Автореферат разослан "14" мая 1995 г.

Ученый секретарь
специализированного Совета
кандидат биологических наук



Т.Г.Лукина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В условиях создания и развития марикультуры комплексные исследования выращиваемых гидробионтов с применением морфо-физиологических и физиолого-биохимических показателей становятся актуальными для современной гидробиологии, морской биохимии. Одной из сторон этих исследований является изучение процессов роста и репродукции, представляющих собой важнейшие функции организма.

Мидия *Mutilus galloprovincialis* (Lam.) - один из массовых видов моллюсков, обитающих в Черном море и играющих существенную роль в функционировании его наиболее продуктивной шельфовой зоны. На протяжении многих лет черноморская мидия была объектом промысла. В настоящее время этот вид становится и основным объектом марикультуры.

Несмотря на широкое изучение биологии *M. galloprovincialis* (Воробьев, 1938; Иванов, 1963, 1967; Славина, 1965; Киселева, 1972; Иванов, Булатов, 1986; Пиркова, 1986; Аболмасова, 1987; Финенко и др., 1990), по-прежнему мало внимания уделено комплексной оценке эколого-физиологических особенностей роста этих моллюсков. Чаще всего авторы ограничивались изучением какого-либо одного из показателей роста, например, линейного или весового, при этом недостаточно внимания уделялось соотношения роста и гаметогенеза. Не всегда учитывался возраст мидий, темпы роста в разных экологических условиях и т.д. В ряде случаев исследования относились к кратковременным и произвольно выбранным периодам годового цикла. Необходимо также отметить, что большинство работ по росту проведено в лабораторных условиях и получение достоверных результатов осложнялось трудностями поддержания стабильных условий существования мидий на протяжении длительного периода времени.

До сих пор остается еще открытым вопрос о темпах роста разных размерно-возрастных групп мидий и популяций, обитающих в экологически различных биотопах, и связанная с этим проблема рационального выращивания и использования этих моллюсков в народном хозяйстве.

Особый теоретический и практический интерес представляет

выявление ранее не изученных закономерностей в соотношении ретенции белка соматических и генеративных тканей на протяжении годового цикла, так как белок у мидий (как и других животных) является важнейшей "функциональной единицей" пластического обмена.

Биохимические подходы к изучению роста тканей, отдельных организмов и популяций животных в последнее время стали использоваться все более широко. Во многих работах авторы обращают внимание на показатели белкового синтеза, поскольку рост происходит в значительной степени за счет белковых структур (Brachet, 1960; Bulow, 1970; Haines, 1973, 1980; Buckley, 1980; Dortch Quay et al., 1983 и др.). Известно, что уровень содержания рибонуклеиновых кислот (РНК) позволяет судить об интенсивности белкового синтеза, росте структуры отдельных тканей (Абрамова, Афанасьева, 1967; Ипатов, 1987; Brachet, 1960; Brodsky, 1975; Robbins, Jan, 1988), содержание же дезоксирибонуклеиновых (ДНК) кислот характеризует количество клеток в анализируемом объеме ткани (Абрамова, Афанасьева, 1987; Brachet, 1960; Dunlop, 1984). При этом, содержание РНК в клетках может колебаться в широких пределах, содержание ДНК для данной клетки более постоянно. В связи с этим, при оценке уровня белкового синтеза (скорости роста) у многоклеточных животных более целесообразно определять их соотношение (Варнавский, Калинин, 1988; Leick, 1968; Bulow, 1970; Haines, 1973, 1980; Buckley, 1979, 1980; Dortch Quay et al., 1983; Westerman, Holt, 1988).

Таким образом, важность учета комплекса морфо-физиологических и физиолого-биохимических показателей при изучении ростовых процессов у мидий очевидна.

Цель и задачи исследования. Цель настоящего исследования заключалась в изучении эколого-физиологических особенностей роста черноморских мидий из различающихся биотопов на протяжении годового цикла в естественных условиях. Для этого необходимо было решать следующие задачи:

- выявить морфо-физиологические особенности роста (линейного, соматического, генеративного и прироста ^{массы}) у мидий, обитающих в различных экологических условиях;

- проанализировать особенности тканевого (соматического и генеративного) роста на протяжении годового цикла, используя для этого данные по массе и данные по динамике содержания суммарной РНК и индекса РНК/ДНК;
- дать качественную оценку и выявить элементы сходства и отличия в линейном росте, приросте масс и ретенции белка у мидий разных размерно-возрастных групп в естественных условиях обитания;
- установить зависимости между содержанием белка в тканях и индексом РНК/ДНК у мидий в условиях кратковременного эксперимента;
- определить роль и степень использования белковых субстратов в энергетике и пластических процессах, обеспечивающих тканевой рост мидий.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование особенностей роста (линейного, соматических и генеративных тканей, а также прироста масс), содержания нуклеиновых кислот (РНК, ДНК) и белка в мантии и гонадах мидий разных размерно-возрастных групп на протяжении полного годового цикла. Выявлены элементы сходства и различия вышеуказанных показателей у мидий, населяющих различные биотопы.

Дан сравнительный анализ роста соматических и генеративных тканей (по физиолого-биохимическим показателям) разноразмерных групп мидий. Показано, что на протяжении большей части годового цикла наблюдается синхронизация ростовых процессов в изучаемых тканях и размерно-возрастных группах.

Полученные результаты углубляют представления о характере ростовых и репродуктивных процессов, существенно дополняют физиолого-биохимическую характеристику периодов годового цикла черноморской мидии.

На черноморской мидии показана возможность использования показателя РНК/ДНК для изучения ростовых процессов у моллюсков, что открывает перспективу применения данной методики на других видах, популяциях и организмах.

Практическое значение. Практическое значение настоящей работы состоит в том, что используемые в ней методические подходы позволяют применять данные по динамике показателей ретенции

вого роста в качестве физиолого-биохимических индикаторов для оценки состояния мидий в различные периоды годового цикла и при различных условиях обитания.

Такие показатели как содержание суммарной РНК и индекс РНК/Д могут быть тонкими индикаторами при изучении влияния на рост стрессовых факторов, связанных с антропогенным загрязнением, заморными явлениями и что особенно важно, при изучении роста моллюсков, выращиваемых в условиях марикультуры.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на Всесоюзной научной конференции молодых ученых (Севастополь, Батилиман, 1987); III Всесоюзной конференции по морской биологии (Севастополь, 1988); научном семинаре отдела физиологии животных ИнБЮМ АН УССР (Севастополь, 1988); расширенном научном семинаре отделов биохимических адаптаций гидробионтов, физиологии животных и марикультуры ИнБЮМ (Севастополь, 1992); научном семинаре лаборатории морских исследований Зоологического института РАН (С.-Петербург, 1995).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ и 2 находятся в печати.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 192 страницах машинописного текста и содержит 36 рисунков и 10 таблиц. Диссертация включает введение, 4 главы, выводы и приложения. Библиография состоит из 176 источников (109 отечественных и 67 зарубежных авторов).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование проведено в течение 1987-1988 гг., что позволило охватить полную годовую цикл мидий. Кроме этого, в работе использованы материалы, полученные в апреле-октябре 1985 года.

Объектом служила черноморская мидия *Mytilus galloprovincialis* Lam., населяющая два разных биотопа: жесткие грунты в бухте Казачья (район Севастополя) и коллекторные установки в бухте Ласпи (район Южного берега Крыма). Для наблюдения за ростом мидий в естественных условиях на протяжении годового цикла использовали подвесные садки из крупной дели. Экспозиция каждой постановки (30-35 экз.) составляла от 26 до 35 суток, с учетом сезона года и температуры воды. Установку садков производили на глубине 3-3,5 м от поверхности.

После изъятия моллюсков из садков и транспортировки их помещали в проточную аквариальную систему на 2-3 суток для снятия стресса.

Диапазон температур морской воды (в течение года) составил 4,8 - 22,7°C. Температурные условия, при которых выдерживали мидий перед опытами (аквариальная проточная система), соответствовали среде обитания в момент отлова.

Для анализа были выбраны три размерно-возрастные группы: моллюски, со средней длиной 30; 50 и 70 мм. Все особи считались половозрелыми.

Исследовалась соматическая (ресничатый край мантии) и генеративная (мантийные лепестки) ткани. Для гонад устанавливали стадию зрелости по пятибалльной шкале (Романова, 1986; Финенко и др., 1990).

Общее количество использованных для анализа мидий составило 2112 экземпляра. Все проведенные определения, кроме показателей дыхательного коэффициента (ДК), были индивидуальны; каждому определению соответствовал 1 экземпляр моллюска.

Ткани для исследования извлекали из свежевывловленных мидий.

Весь собранный материал (каждую особь в отдельности) вначале подвергали морфометрическим промерам: измеряли длину, общую сырую и сухую массу, сырую массу мантии и гонад в отдельности. По пятибалльной шкале устанавливали стадию зрелости гонад (моллюсков 4-5 стадий развития гонад относили к размножающимся в данном месяце). Затем материал шел на определение биохимических показателей (содержание белка, суммарного количества РНК, суммарного количества ДНК).

Навеску мантийной ткани (150-300 мг) брали с брюшной стороны раковины. Гонады извлекали из полости тела, причем только ту их часть, которая выстилала непосредственно внутреннюю поверхность раковины (мантийные лепестки). Затем из всего объема выделенной ткани отбирали навески в 50-300 мг и после гомогенизирования переносили в мерные стеклянные пробирки с притертыми пробками, объемом в 5 мл, в которых находилось такое же количество ацетона. Заготовленные таким образом пробы помещали в холодильник и хранили до непосредственного проведения химического анализа (обычно не более 3 - 10 суток).

Параллельно на этих же тканях и размерно-возрастных группах проводили измерение величин интенсивности поглощения кислорода (Q) и ДК. В среднюю пробу входил материал, полученный от 13 экз. (группа 30 мм); 5 экз. (группа 50 мм) и 2 экз. (группа 70 мм) моллюсков. Каждой пробе соответствовали 4-7 определений. Измерение потребления кислорода тканями осуществляли манометрически в аппарате Варбурга по стандартной методике (Умбрейт с соав., 1951; Kuttu, 1967, 1968). ДК находили как отношение объема выделенной углекислоты (V_{CO_2}) к объему поглощенного кислорода (V_{O_2}).

Количественное определение нуклеиновых кислот (НК) проводили спектрофотометрически, применяя метод разностей экстинкций (Vischer, Chargaff, 1948; Спирин, 1958; Нечаева, 1966; Дивавин, 1980, 1982); позволяющий избежать влияния неспецифически поглощающих примесей. Белок определяли биуретовым методом (Гаузе, 1974). Количество РНК, ДНК и белка выражали в процентах к сухой массе тканей.

Результаты исследований обработаны статистически (Плохинский, 1961; Рокицкий, 1967). Вычисляли: среднюю арифметическую (M), среднее квадратическое отклонение (S), ошибку средней (m), достоверность различий выборочных средних (p), нормированное отклонение (t) и коэффициент вариации (v).

Результаты и обсуждение

I. ОСОБЕННОСТИ ЛИНЕЙНОГО РОСТА И ПРИРОСТА МАССЫ.

Линейный рост и рост масмидий двух исследованных популяций (в бухтах Казачья и Ласпи) проходил в различные месяцы 1987-1988 гг. с разной интенсивностью. Созревание гонад у мидий в обеих бухтах происходило в феврале-марте, июле-августе и ноябре 1987 г., а также в марте-апреле 1988 г. Массовый вымет половых продуктов - в апреле-июне, сентябре, октябре и декабре 1987 г., а также в мае 1988 г. Рассмотрим особенности линейного и весового роста моллюсков на примере средней размерной группы (50 мм) из бухты Ласпи (рис. 1). Совершенно очевидно соответствие линейного роста и роста мас друг другу. Временные отрезки наиболее интенсивного прироста массы (ΔW_{Σ}) как правило приходятся на время более высоких линейных приростов (Δl)

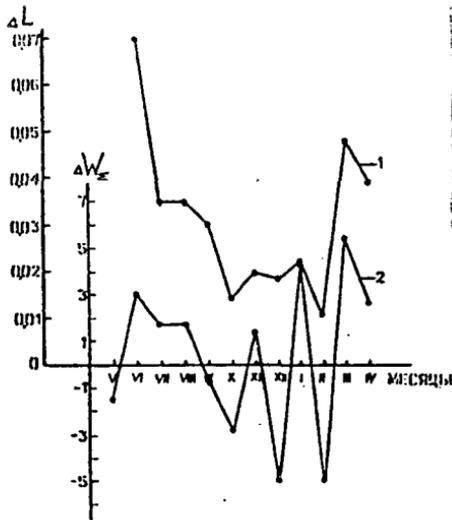


Рис. 1. Динамика среднесуточных приростов мидий средней группы:
1- линейные приросты, мм.сут. — I
2- весовые приросты, мг.сухой ткани.сут.

Обращает на себя внимание четкое чередование интенсивного линейного роста и роста ^{массы} и резкого их замедления (а для массы — снижение ее прироста). Синхронность процессов роста массы у мидий разных размерно-возрастных групп на протяжении годового цикла показана на примере б.Ласпи (рис. 2). В каждом конкретном месяце у всех групп получены либо положительные, либо отрицательные значения приростов. Сухая масса тканей, несомненно, связана с физиологическим состоянием моллюсков. Так, значительные колебания этой массы отмечены в период нереста, что обусловлено частичным или полным выметом половых продуктов. Для всех групп моллюсков в апреле — июне (весеннее размножение) наблюдаются резкие изменения массы тела (рис. 2), а также в сентябре — январе (растянутый осенне-зимний нерест). Увеличение сухой массы тела в 1,5 — 2,0 раза в период подготовки к нересту ранней весной и в конце лета отмечено для *M. galloprovincialis*.

С другой стороны, отрицательные весовые приросты (октябрь, декабрь 1987 и февраль 1988 г.) совпадает с замедлением линейных приростов. Выявленная тенденция, в основном, проявляется и на двух других размерных группах бухты Ласпи, а также на всех трех группах мидий б. Казачья. Установленное соответствие указывает на тесную взаимосвязь рассматриваемых процессов. Очевидно, белковый синтез, обеспечивающий рост мягких тканей моллюсков, идет параллельно с минеральным синтезом, обеспечивающим рост раковины.

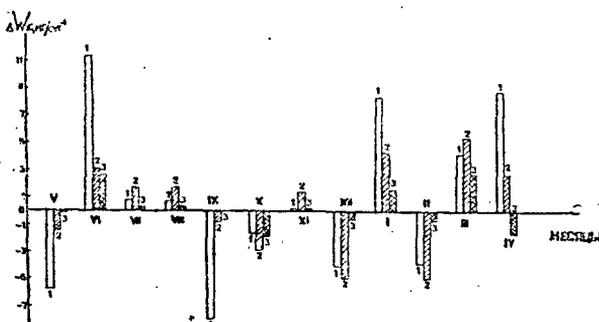


Рис. 2. Общий прирост массы сухих тканей мидий разных размерных групп (б.Ласпи)
I - 70 мм; 2 - 50 мм; 3 - 30 мм.

и в зимнее время (декабрь), что связано с окончанием нереста. Замедление прироста в зимнее время, очевидно, связано также и с понижением общего обмена и роста из-за плохой обеспеченности пищей (Горомосова, 1971; Аболмасова, 1987).

Наиболее интенсивный рост массы отмечен у всех групп в летние месяцы в интервале температур воды 18,4-22,7°C и в марте-апреле. В осенне-зимний период (ноябрь-январь, $t = 12,4 - 7,7^{\circ}\text{C}$) происходит снижение роста массы.

При сравнении приростов мидий из разных бухт оказалось, что их динамика сходна. Различия отмечены лишь для двух месяцев (январь, февраль). Таким образом, имеющиеся различия в условиях существования (включая и разные субстраты прикрепления) не оказывают существенного влияния на динамику весовых приростов. Наиболее заметны различия между размерно-возрастными группами в пределах одного ареала.

Что касается линейного роста, то его колебания, помимо зависимости от рассмотренных процессов, связаны также с изменениями температур морской воды. На это указывают и многие авторы (Иванов, 1965; 1967; Аболмасова, 1987; Вижевский, 1987; Финенко и др., 1990).

30-ти мм группы мидий в б. Ласпи растут более интенсивно,

sialis и другими авторами (Романова, 1986; Аболмасова, 1987; Пиркова, 1988). Минимальные значения сухого вещества зафиксированы у всех групп в мае независимо от места обитания; в сентябре (окончание I пика нереста)

чем 50 и 70-ти мм группы. В целом, за год линейный прирост младшей размерно-возрастной группы составил 11,8 мм, средней - 7,8 и старшей - 11,2 мм. В б. Казачья эти приросты были ниже: у 30-ти мм группы линейный годовой прирост составил 6,7 мм; у 50-ти мм группы - 6,1 мм и у 70-ти мм мидий - 8,5 мм. Более низкий линейный рост средней размерной группы по сравнению с младшей, объясним более интенсивным генеративным ростом в течение всего года. Линейные приросты старших групп близки к величинам приростов младших групп. Приросты массы мидий б. Ласпи соответственно выше приростов мидий б. Казачья. Так, 30-ти мм группа б. Ласпи имеет годовой прирост 137,0 мг. Аналогичная ей группа из б. Казачья 62,2 мг. Средняя группа б. Ласпи 165,0 мг; б. Казачья - 140,4 мг. Старшие размерно-возрастные группы соответственно 331,5 мг и 58,7 мг. Таким образом, коллекторная популяция (б. Ласпи) имеет более интенсивные линейные приросты и приросты ^{массы} по сравнению с популяциями мидий, обитающими на жестких грунтах (б. Казачья). Это связано, вероятно, с интенсивными стонно-нагонными явлениями, характерными для ласпинского биотопа, и как следствие, более лабильными температурными условиями, более высокой концентрацией фитопланктона и органического детрита (Иванов, Холодов, Сеничева, 1989). Такая же закономерность свойственна другим водоемам с мощным развитием мидиевых банок (Вауне, Wotzall, 1980). Ряд авторов отмечает, что мидии, выращенные на коллекторах растут более интенсивно, чем мидии из естественных поселений (Солдатова, 1983; Иванов, Булатов, 1986; Иванов и др., 1988). Следует отметить, что темп роста коллекторных популяций черноморской *M. galloprovincialis* в бухте Ласпи выше, чем в Керченском проливе и северо-западной части Черного моря (Золотницкий, Штыркина, 1983; Иванов, Булатов, 1986; Вижевский, 1988). Сравнение наших данных по линейному росту и росту массы мидий в бухтах Ласпи и Казачья, полученных в 1987-1988 гг. с материалами предыдущих исследований (Булатов, 1982; Иванов, и др., 1988, 1989), показывают, что в последние годы темпы приростов мидий в этих районах снизились. По-видимому, это отражает тенденцию к ухудшению условий обитания этих моллюсков в Черном море. Подобная тенденция отмечена для *M. galloprovin-*

cialis и в других районах Черного моря.

2. ОСОБЕННОСТИ ТКАНЕВОЙ РЕТЕНЦИИ БЕЛКА.

Данные по содержанию белка в сухом веществе мидий рассмотрим на примере моллюсков *Б. Казачья* (рис. 3 и 4). Изменения в содержании белка в общем сходны как у трех исследованных размерных групп, так и при сравнении соматической и генеративной тканей. Содержание белка во всех случаях имеет пики, связанные с созреванием половых продуктов и соматическим ростом, и периоды снижения, наступающие после размножения мидий. Эти снижения могут быть также связаны с неблагоприятными условиями роста и развития. Когда мидии имеют половые продукты на III-IV, IV-V стадиях, происходит заметное увеличение содержания белка в гонадах. В конце размножения оно резко падает, а в последующие месяцы снижается до минимума. Подобная закономерность отмечалась ранее (Горомосова, 1971).

У всех групп на протяжении годового цикла получены большие перепады между максимумами и минимумами (13,9-64,0% сух. массы в мантии и 13,5-56,2% сух. массы в гонадах). Аналогичная динамика содержания белка в общем гомогенате черноморских мидий отмечена Т.С. Осадчей (1984, 1987), карадагскими (Морозова, Астахова, 1986) и одесскими исследователями (Кандюк, Лисовская, 1987). По данным Т.С. Осадчей (1987), у 50-ти мм мидий *Б. Ласпи* содержание белка составляло от 14,7 до 64,0% на сухую массу.

Ясно выражены два периода в годовом цикле, когда содержание белка у всех групп в мантии и гонадах максимально: первый период - зимний преднерестовый (февраль-март), второй - начало осенне-зимнего репродуктивного (сентябрь-октябрь). После мартовского максимума, во время весенне-летнего размножения, содержание белка падает, снижаясь до минимума (рис. 3, 4). Процессы белкового роста, протекающие в гонадах и мантии разных размерно-возрастных групп в теплое время года, имеет общую направленность. Исключение составляет зимний сезон, с декабря по февраль, характеризующийся заметным увеличением содержания белка в мантии по сравнению с ноябрем и небольшим снижением его содержания в гонадах.

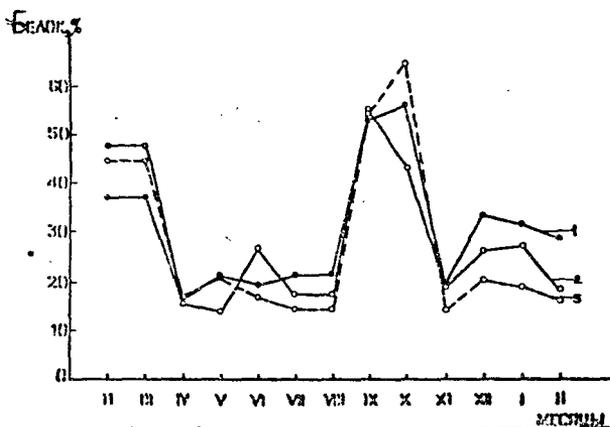


Рис. 3. Динамика относительного содержания белка в соматической ткани мидий на протяжении годового цикла. I - 30 мм; 2 - 50 мм; 3 - 70 мм.

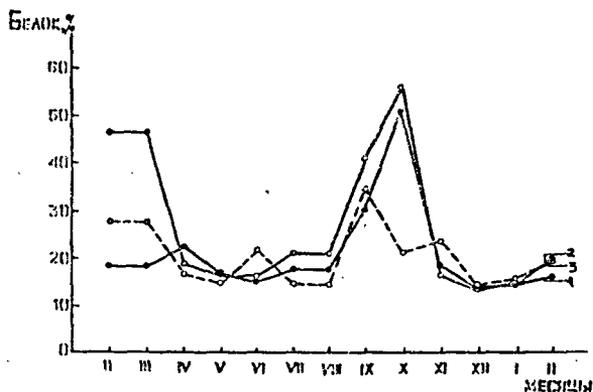


Рис. 4. Динамика относительного содержания белка в гонадах мидий на протяжении годового цикла.

Обозначения те же, что и на рис. 3.

у различных групп мидий имеют особенности, связанные с возрастными отличиями, а также не всегда синхронным развитием гонадотрофной ткани в течение одного преднерестового периода (рис. 4).

Несмотря на сходную тенденцию в динамике содержания белка соматических тканей разных групп мидий в осенне-зимние месяцы наблюдаются некоторые различия. Вероятно, это объясняется участием белков.

соматических тканей в качестве источников энергии в процессах нереста, который, как известно, наиболее "напряжен" у старших возрастных групп. Здесь можно провести аналогию с данными, полученными на нерестующих рыбах (Love, 1980).

Судя по динамике содержания белка в гонадах, процессы ретенции белка.

Так, величины резко отличаются в феврале-марте ($p < 0,05$). В это время содержание белка может быть очень низким, как у младшей группы (18,33%), либо высоким (46,44%), как у средней. В апреле возрастные различия сглаживаются. В целом, динамика исследуемого показателя в гонадах трех групп на протяжении годового цикла, так же как и в соматической ткани, имеет циклический характер, с ярко выраженными максимумами в феврале - марте и сентябре - октябре. Содержание белка в гонадах 30-ти и 50-ти мм моллюсков значительно выше на протяжении большей части годового цикла, чем у 70мм моллюсков, что свидетельствует о более интенсивной ретенции белка первых двух групп.

Сравнение динамики изучаемого показателя у мидий, обитающих в разных экологических условиях (жесткие грунты и коллекторные установки) показывает, что на протяжении большей части годового цикла характер динамики схож (рис. 5 и 6). Так, в мантии средней группы мидий из б. Казачья максимальное содержание белка получено в сентябре; у мидий из б. Ласпи также в сентябре. Минимальные значения - в апреле и ноябре. В мантии в весенне-летний период имеются и достоверные различия ($p = 0,045$ в мае, $p = 0,03$ в июле-августе). У коллекторных мидий содержание белка изменяется в это время очень незначительно (22,2 - 24,1%) по сравнению с мидиями б. Казачья (13,9 - 26,8%). В гонадах аналогичных групп мидий сравниваемых бухт величины содержания белка близки практически на всем протяжении годового цикла. Достоверных различий для большинства точек не найдено

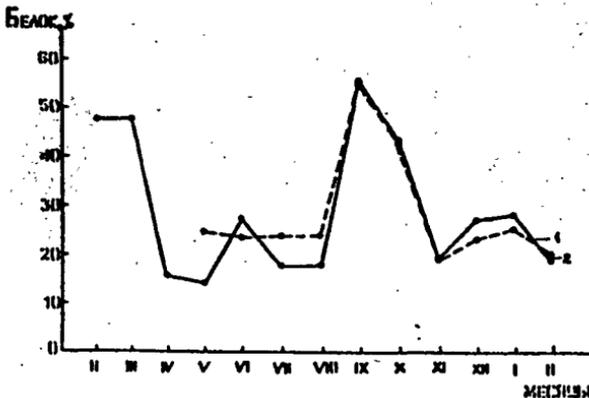


Рис. 5. Динамика относительного содержания белка в мантии средней размерной группы.

I — б. Казачья,
2 — б. Ласпи.

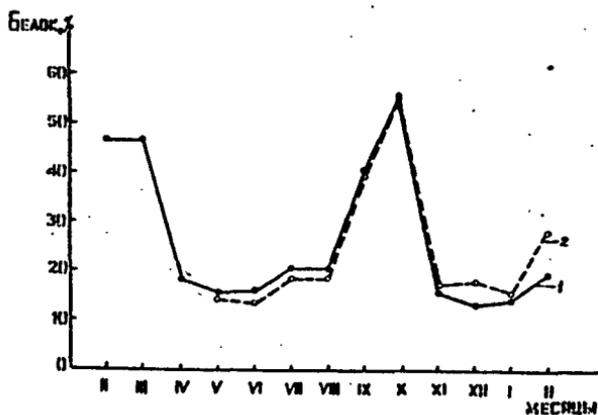


Рис. 6. Динамика относительного содержания белка в гонадах мидий средней размерной группы.

I — б. Казачья; 2 — б. Ласпи.

Данные по динамике содержания белка в мантии и гонадах мидий, полученные с мая по август 1985, соответствуют данным, рассмотренным выше, для 1987 года.

III. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ РНК, ДНК И ИНДЕКСА РНК/ДНК

3.1. Динамика содержания РНК и ДНК

Известно, что в синтезе белка непосредственное участие принимают почти все виды РНК, поэтому их суммарное содержание в данный момент (период) жизни отражает скорость синтеза белка: чем выше его содержание, тем выше скорость синтеза (Brachet, 1960; Dagg, Littlepage, 1972; Dunlop, David, 1984).

Содержание РНК в мантии мидий сильно изменяется на протяжении годового цикла. В периоды нереста содержание РНК у всех групп минимально (0,12 — 0,93% на сух. массу); в преднерестовые периоды достигает максимума (3,20 — 4,35). В летний преднерестовый период содержание РНК в мантии всех групп в среднем в 8,0 раза выше по сравнению с весенне-летним репродуктивным периодом и в 14,2 выше по сравнению с осенним репродуктивным периодом.

($p \geq 0,05$).

Эти общие черты в динамике содержания белка у мидий из разных районов, несомненно, объясняются относительным сходством условий их обитания в бухтах Ласпи и Казачья и генетически закрепленной синхронностью физиологических циклов.

Содержание РНК в гонадах у изучаемых групп мидий также минимально в месяцы, на которые приходится нерест (0,05 - 0,65). Лишь в ноябре оно несколько увеличено (0,56 - 0,67). Это связано с особенностями осенне-зимнего нерестового периода, порционным накоплением и выделением половых продуктов. Ноябрь - середина периода - новый "всплеск" синтетических процессов в гонадах, увеличение массы гонад и как результат - вторичный вымет в декабре. В преднерестовые периоды, особенно в июле-августе, содержание РНК в гонадах у всех групп достигает максимума: 2,20 - у младшей; 2,30 - у средней и 1,51% - у старшей групп. Второй максимум приходится на февраль-март, но он у всех групп ниже летнего (0,48 - 0,96).

Содержание РНК в гонадах средней группы на протяжении большей части годового цикла выше, чем у двух других групп, из чего следует, что наиболее интенсивные процессы белкового синтеза происходят именно у этой группы.

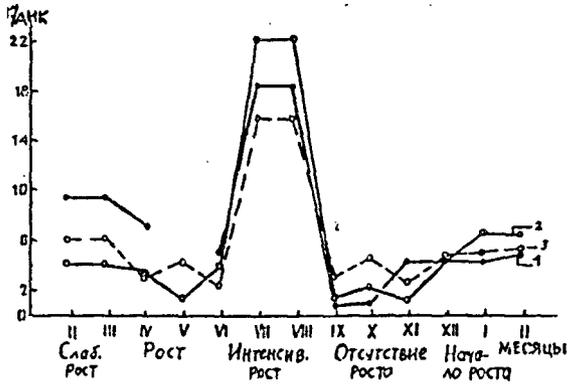
Содержание ДНК на протяжении года в мантии и гонадах более стабильно, чем содержание РНК. Изменения величин лежат в диапазоне 0,074 - 0,42% сухой массы. Поскольку содержание ДНК характеризует количество клеток в анализируемом объеме ткани и при этом для данной клетки намного более постоянно, чем содержание РНК, при оценке уровня белкового биосинтеза более целесообразно применять их соотношение.

3.2. Динамика индекса РНК/ДНК

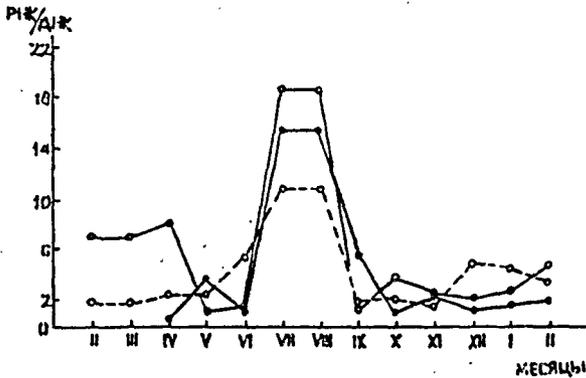
Характер изменений величин индекса в мантии трех размерных групп на протяжении годового цикла сходен. Исключение составляет младшая размерная группа в октябре-ноябре (рис. 7). Как и для значения суммарной РНК, индекс РНК/ДНК имеет 2 максимума, приходящиеся на зимний и летний преднерестовые периоды. Высокое значение получено также для младшей группы в мае.

В остальные периоды годового цикла соматическая ткань у мидий характеризуется достаточно устойчивыми значениями индекса РНК/ДНК.

Максимальные значения для гонад (рис. 8), как и для соматической ткани, приходятся на летний период. У средней группы в зимний преднерестовый период также получен высокий индекс.



ис. 7. Динамика индекса РНК/ДНК в соматической ткани мидий (бухта Казачья).
I - 30 мм; 2 - 50 мм; 3 - 70 мм.



ис. 8. Динамика индекса РНК/ДНК в генеративной ткани мидий (б. Казачья)
(Обозначения те же, что и на рис. 7).

Статистическая обработка данных показала, что в гонадах и мантии у 30 и 50-ти мм моллюсков значения индекса выше на протяжении большей части годового цикла, чем у 70-ти мм группы ($p < 0,05$).

Сравнение динамики индекса в мантии и гонадах одноразмерных групп показало, что она имеет сходный характер, с выраженным

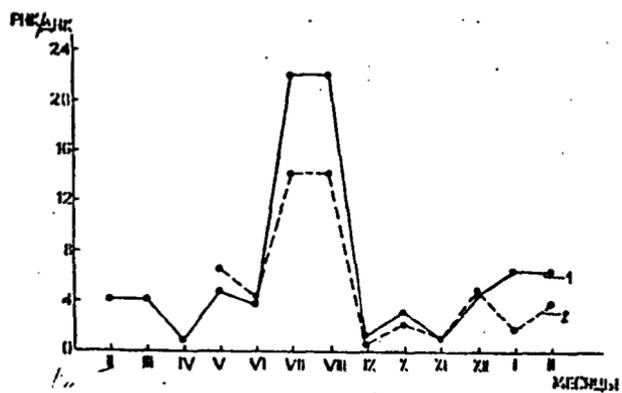
В периоды весенне-летнего (апрель, июнь) и осенне-зимнего (сентябрь, ноябрь, декабрь) пиков нереста значения индекса минимальны и близки у разных размерных групп. Исключение составляет лишь младшая группа в сентябре и старшая в декабре. Вероятно, это связано с полным выметом половых продуктов младшей размерной группой, у которой вымет приходится не на сентябрь, как у двух других групп, а на октябрь. У старшей же размерной группы активный нерест происходит в сентябре и ноябре.

максимумом в летний период. Второй максимум приходится на февраль- март (зимний преднерестовый). К примеру, для средней группы высокий индекс получен в гонадах и мантии в феврале - марте (7,10 - в гонадах и 4,20 - в мантии) и июле-августе (18,95 - в гонадах и 22,30 - в мантии). Высокие значения индекса указывают на интенсивное протекание белкового синтеза в обеих тканях. Низкие - на репродуктивные периоды, с минимальными величинами в гонадах в мае (1,10); сентябре (1,37);

в мантии в апреле (0,97), сентябре (1,39) и ноябре (1,13). Различие наблюдается лишь зимой, с ноября по февраль, что можно связать с несовпадением в периодах роста соматической и генеративной тканей.

Таким образом, анализ кривых индекса РНК/ДНК в мантии и гонадах одноразмерных групп выявил сходную тенденцию на большей части годового цикла, что позволяет говорить о синхронной направленности биосинтетических процессов.

Динамика индекса РНК/ДНК в мантии одноразмерных мидий из разных биотопов имеет сопряженный характер, за редким исключением (январь, февраль), (рис. 9). В гонадах мидий, обитающих в разных



бухтах, максимум значений индекса приходится, как и в соматической ткани, на летний преднерестовый период: 18,95 - у мидий б.Казачья и 8,2 - у мидий б. Ласпи. Минимальные значения получены в сентябре (Казачья - 0,37; Ласпи - 0,2) и декабре (Казачья - 0,41;

Рис. 9. Динамика индекса РНК/ДНК в мантии средней размерной группы мидий. 1 - б.Казачья; 2 - б. Ласпи.

Ласпи - 0,36). В эти месяцы происходит наиболее массовый и интенсивный вымет половых продуктов (Финенко и др., 1990).

Таким образом, проведенный этап исследований на разных размерно-возрастных группах и экологически неоднородных популяциях мидий, позволил установить зависимость и особенности годовой динамики сум. РНК и соотношения РНК/ДНК. Показано, что динамика этих показателей имеет сопряженный и направленный характер (исключение - зимние месяцы).

IV. СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ ИНДЕКСОМ РНК/ДНК И СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА В ТЕЛЕ МИДИЙ В УСЛОВИЯХ КРАТКОВРЕМЕННОГО ЛАБОРАТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Одной из задач исследования было установление зависимости между содержанием белка в теле мидий и индексом РНК/ДНК в условиях эксперимента. С этой целью был проведен эксперимент, длительностью 30 суток, в течение которого анализируемые моллюски (неполовозрелая группа, $L = 20$ мм) содержались в проточной аквариальной системе на естественном корме и последовательно подвергались биохимическому анализу (на содержание сухого вещества, белка, сум. РНК и ДНК) в течение последующих 30-ти: на 1, 3, 5, 8 и последующие дни (рис. 10). Эксперимент показал, что динамика

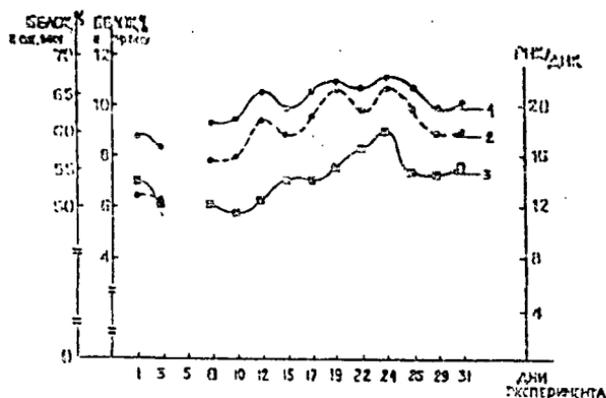


Рис. 10. Изменения в содержании белка и динамике индекса РНК/ДНК в теле мидий в процессе эксперимента.

1 — содержание белка, % сырой массы тела; 2 — содержание белка, % сухой массы тела; 3 — индекс РНК/ДНК.

содержания белка в сырой и сухой массе сопряжена, с выраженными тремя максимумами на 12, 19 и 24 день. Выявлена тенденция к постепенному увеличению содержания белка, начиная с третьего дня эксперимента до максимума, полученного на 24 день. Характер изменений индекса имеет ту же тенденцию к увеличению,

что и белок, с выраженным одним максимумом на 24 день.

Данные, характеризующие белковый рост у неполовозрелых одноразмерных мидий, позволили рассчитать уравнения линейной регрессии:

$$y_I = 5,84 + 0,29 x \quad (1)$$

и

$$y_2 = 36,05 + 1,66 x, \quad (2)$$

где y_I — содержание белка в % от сырой массы тканей;

y_2 — то же — от сухой массы; x — индекс РНК/ДНК.

Коэффициент корреляции в уравнении (1) равен 0,74; в уравнении (2) — 0,67, при уровне значимости $P = 0,01$ (рис. II а, б).

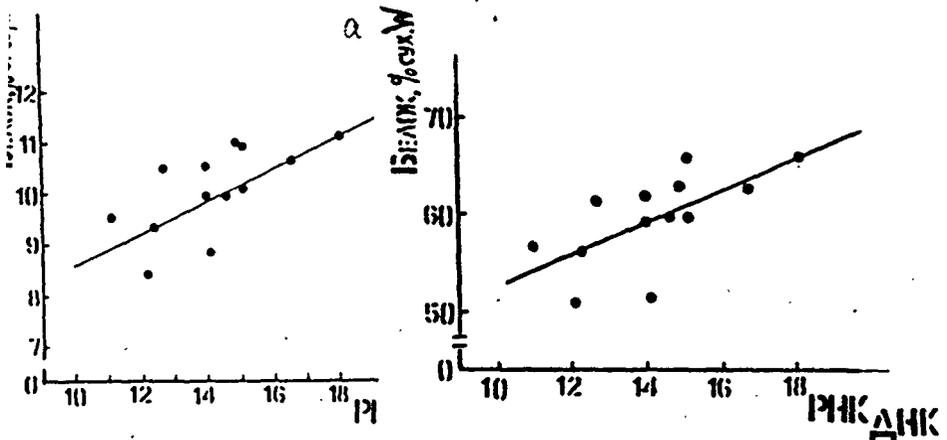


Рис. II. Зависимость между содержанием белка в тканях мидий и индексом РНК/ДНК:
а — белок в % от сырой массы; б — белок в % от сухой массы.

Таким образом, в ходе эксперимента установлено, что существует тесная положительная корреляция между величинами РНК/ДНК и содержанием белка в теле неполовозрелых мидий. Подобная высокая коррелятивная связь получена в мышечной ткани сеголеток кеты (Варнавский, Калинин, 1988; Nakano et al., 1985 а).

v. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКОВ И БЕЗБЕЛКОВЫХ СУБСТРАТОВ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ ОБМЕНЕ МИДИЙ

Исследование годовой динамики дыхательных коэффициентов (ДК)

в соматической и генеративной тканях мидий показало наличие нескольких субстратов окисления, а также типов обмена у мидий. Как известно, величина ДК указывает на характер окисляемых субстратов (Кожтоянец, 1950). Так, при окислении до CO_2 и H_2O она равна: для углеводов — 1,00; жиров — 0,7. Для белков при окислении до CO_2 , H_2O и конечных азотистых продуктов — 0,81. В случае промежуточных значений ДК, судить о природе окисления труднее: это могут быть белки, жиры и углеводы, используемые в энергетическом обмене в различных соотношениях (смешанный тип обмена).

Особый интерес для нас представлял вопрос о сопряжении использования белковых субстратов в энергетическом обмене с процессами ретенции белка. Из немногочисленных литературных данных известно, что у мидий за счет процессов белкового катаболизма освобождается меньшее количество энергии, чем при использовании углеводов (Муравская, 1966; Слатина, 1990). Исходя из собственных результатов можно заключить, что действительно, на протяжении значительной части годового цикла, в качестве основного источника метаболической энергии у мидий используются углеводы. Так, в зимний преднерестовый и весенне-летний нерестовые периоды в соматической ткани происходит преимущественное использование углеводных субстратов (ДК = 0,96–0,97). В генеративной же ткани в эти периоды ДК в среднем равны 0,90–0,92, что свидетельствует об использовании смешанных субстратов (белков и углеводов). Наконец, летний период роста характеризуется использованием в энергетическом обмене белков (ДК в соматической ткани равен 0,80). Интенсивный белковый синтез, связанный с соматическим ростом, наряду с повышенным использованием белка в энергетическом катаболизме, свидетельствует о высоком уровне белкового обмена в соматической ткани мидий в этот период. В генеративной ткани летом — углеводный тип обмена — высокие значения ДК (0,97). В осенне-зимний репродуктивный период в соматической ткани наблюдается вновь смешанный тип обмена.

В гонадах во время размножения происходит интенсивное потребление углеводов (осенне-зимний нерест). В октябре, однако, наблюдается резкое снижение ДК до величины 0,72 (соматическая ткань) и 0,74 (генеративная ткань), свидетельствующее об использовании жира в качестве энергетического субстрата. Предполагается, что

его расщепление необходимо для поддержания положительного жирового баланса гонадотропной ткани, так как продукты неполного липолиза входят в состав пластического материала гонад (Горомосова, Шапиро, 1984). В начале этого же периода у мелких моллюсков интенсивно используются белки ($DK = 0,83$, сентябрь). Различия в типах субстратов окисления, вероятно, объяснимы сдвигами в сроках размножения самых мелких и более крупных моллюсков в пределах одного и того же нерестового периода. Во время нереста, по данным С.А. Горомосовой и В.А. Таможней (1980), углеводный баланс мидий может оставаться положительным прежде всего за счет притока постоянно синтезируемых полисахаридов.

Таким образом, анализ годовой динамики DK свидетельствует о том, что в качестве основного источника метаболической энергии у мидий используются углеводы. В то же время, в отдельные периоды годового цикла (зимний преднерестовый и осенне-зимний нерестовый) в генеративной ткани наблюдается смешанный (белково-углеводный) тип энергетического обмена. Преимущественное использование белка в катаболических процессах характерно для летнего периода интенсивного соматического роста. Жир, как энергетический субстрат, у мидий используется крайне редко, в основном на начальном этапе формирования гонадотропной ткани.

VI. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ РОСТА

Использование в работе морфологических, физиологических и биохимических показателей для оценки процессов роста позволило получить комплексную характеристику роста черноморских мидий. Годовой жизненный цикл мидий можно разделить на пять периодов. В основу деления мы положили высокие и низкие генеративные и соматические приросты, а также общие весовые приросты мятких тканей (табл. I). Как указывалось выше выявлена синхронность синтеза белка в соматической и генеративной тканях мидии.

Приведенные материалы показывают, что содержание белка, сум. РНК и соотношение РНК/ДНК могут быть использованы в качестве физиолого-биохимических индикаторов ретенции и синтеза белка у мидий. Эти показатели стали все чаще использоваться ввиду своей универсальности и высокой чувствительности применительно ко многим объектам (Ипатов, 1987; Варнавский, Калинин, 1988; Lang et al., 1965; Sut-

Таблица I.

Показатели физиологического состояния
мидий в различные периоды годового цикла

Периоды Показатели	Зимний преднерес- товый	Весенне- летний репродук- тивный	Летний период роста	Осенне- зимний реп- родуктив- ный	Зимний покой
1. <u>Линей- ные При- росты</u>	Относи- тельно низкие	Высокие	Относи- тельно низкие	Высокие	Низкие
2. <u>Весовые прирос- ты</u>	Высокие	Относи- тельно низкие	Высокие	Относи- тельно низкие	Низкие
3. <u>Белок</u>					
а) в мантии	Высокое	Низкое	Низкое	Высокое	Относи- тельно низкое
б) в гонадах	Высокое	Низкое	Низкое	Относи- тельно низкое	Низкое
4. <u>РНК</u>					
а) в мантии	Относи- тельно низкое	Низкое	Высокое	Относи- тельно низкое	Высокое
б) в гонадах	Высокое	Низкое	Высокое	Низкое	Низкое
5. <u>РНК/ДНК</u>					
а) в мантии	Высокое	Низкое	Высокое	Низкое	Относи- тельно низкое
б) в гонадах	Высокое	Низкое	Высокое	Низкое	Низкое

ffe, 1965, 1970; Church, Robertson, 1966; Leick, 1968; Buckley, 1979, 1980; Haines, 1979, 1980; Dortch Q. et al., 1983). По мнению французских ученых (Robbins Jan et al., 1988), общее содержание РНК, а также отношение РНК/ДНК можно использовать в качестве экспресс метода для оценки активности синтеза в соматических и генеративных тканях близкой к мидии двустворки *Pecten maximus*. Ряд авторов отмечают, что количественные значения показателей РНК и ДНК можно успешно применять как биологические индикаторы роста рыб (Ипатов, 1987; Vilow, 1970; Buckley, 1980). Изучение динамики содержания нуклеиновых кислот в тканях балтийской трески и шпрота использовалось для оценки изменений процессов роста этих рыб в различные периоды жизненного цикла в зависимости от их физиологического состояния, возраста и специфики экологии (Ипатов, 1987). Автором показано, что максимум содержания РНК

достигается во время осеннего нагула, минимум – к концу гидрологической зимы. Однако, аналогичных исследований на двусторчатых моллюсках пока не проводилось.

На стандартных гидробиологических объектах (устрица, голубая мидия, американские лещи, полосатый лаврак) было установлено также, что индекс РНК/ДНК чувствителен к смене пищевых уровней и может служить при этом показателем мгновенной скорости ретенции белка (Bulow, 1970, Widdows, 1978b; Hetzel et al., 1983; Naka8 no et al., 1985a; Wright, Martin, 1985).

Выбранный в качестве основного, индекс РНК/ДНК способен характеризовать мгновенную скорость синтеза (белкового анаболизма, A_p). Содержание же белка в теле (тканях) можно рассматривать как ретенцию, т.е. результирующую процессов анаболизма (A_p) и катаболизма (K_p):

$$P = A_p - K_p$$

В большинстве случаев у животных наблюдается прямая зависимость между P и A_p : начальные стадии развития, молодые быстрорастущие особи разных видов, организмы с коротким жизненным циклом и т.д. (Lang, Lau, 1965; Leick, 1968; Dagg, Littepage, 1972; Buckley, 1980; Hetzel, Wright, 1983; Nakano et al., 1985; Wright, Martin, 1985).

Наш эксперимент на неполовозрелой группе мидий показал высокую коррелятивную связь содержания белка и индекса РНК/ДНК. В природных условиях, у мидий на протяжении больших временных интервалов (годовые циклы) рассматриваемая зависимость также имеет место. Однако, она прослеживается не всегда (см. рис. 3-4, 7-8). Причина этого – разная интенсивность белкового катаболизма (K_p), о котором можно судить по величине ДК. Подчеркнем, что величина P , является показателем степени сопряженности белкового синтеза с одной стороны, и процессов распада белоксодержащих субстратов, с другой. Таким образом, наиболее правильно для суждения об особенностях ростовых процессов использовать оба показателя (индекс РНК/ДНК и содержание белка в ткани) в совокупности. Главными аспектами приложения указанных показателей в отношении гидробионтов вообще и мидий, в частности, могут быть:

1) характеристика особенностей белкового синтеза и роста в связи с периодами годовых циклов: оценка специфических тканевых и онтогенетических особенностей этих процессов:

-2) оценка белкового синтеза и роста популяций, обитающих в разных экологических условиях для выявления элементов сходства и отличия в скоростях и направленности этих процессов;

-3) прогнозирование наиболее благоприятных периодов сбора мидий при их разведении в условиях современных марихозяйств.

ВЫВОДЫ

1. Сопряженное изучение динамики линейных приростов, приростов массы мидий, содержания белка, суммарных РНК и индекса РНК/ДНК в соматической (мантия) и генеративной тканях показало, что рост мидий на протяжении года происходит неравномерно. Высокие и низкие соматические и генеративные приросты мидий могут быть положены в основу разделения их годового цикла на периоды.

2. Зимний преднерестовый период (февраль-март) характеризуется начальными процессами генеративного роста, резким увеличением массы тела, а также началом линейного роста. Наблюдается интенсивный синтез белка в генеративной и соматической тканях, на что указывает высокие значения индекса РНК/ДНК в гонадах и мантии мидий разных возрастных групп.

3. Весенне-летний репродуктивный период (апрель-июнь) характеризуется завершением генеративного роста с последующим выметом основной массы половых продуктов, линейным ростом и приостановкой белкового синтеза в соматических тканях.

4. Летний период роста (июль-август) отмечен интенсивным белковым синтезом в соматической и генеративной тканях, максимальными приростами массы и слабо выраженными линейным ростом. Генеративный рост в этот период значительно выше, чем в зимний.

5. Осенне-зимний репродуктивный период (сентябрь-декабрь) имеет принципиальное сходство с весенне-летним, хотя наблюдаются некоторые различия. Происходит резкое снижение общей сухой массы тела и содержания белка в гонадах и мантии, что отражает интенсивное порционное размножение. В это же время наблюдается линейный рост средней интенсивности и слабый соматический.

6. Зимний период покоя (январь) характеризуется окончанием генеративного роста мидий, слабым линейным ростом а также замет-

ным усилением биосинтетических процессов в соматической ткани.

7. Судя по дыхательному коэффициенту, в летний период в соматической ткани происходит преимущественное использование белка в качестве энергетического субстрата. Поскольку в этот же период наблюдался интенсивный белковый синтез, это указывает на высокий уровень белкового метаболизма в летние месяцы. В осенне-зимний нерестовый и зимний преднерестовый периоды в генеративной ткани наблюдается смешанный, белково-углеводный, тип использования энергии. В остальные периоды годового цикла основным источником энергии в соматической и генеративной тканях являются углеводы.

8. Сравнение данных по содержанию белка и нуклеиновых кислот в мантии и гонадах показало, что на протяжении большей части годового цикла процессы ретенции белка в этих тканях в основном протекают однонаправленно.

9. Сравнительный анализ линейного роста и роста ^{массы} трех размерно-возрастных групп мидий, населяющих жесткие грунты (б. Казачья) и коллекторные установки (б. Ласпи), выявил более интенсивный рост коллекторных популяций по сравнению с популяциями мидий, обитающих на жестких грунтах.

10. Темпы линейного роста и роста ^{массы} черноморской мидии (в 1987-1988 гг.), обитающей в районе Севастополя (бухты Ласпи и Казачья) по сравнению с прошлыми годами резко снижены.

11. Содержание суммарных РНК и значения индекса РНК/ДНК являются тонкими физиолого-биохимическими индикаторами уровня тканевого белкового синтеза у мидий в различные периоды годового цикла и при различных условиях обитания. В преднерестовые периоды содержание суммарных РНК и значения индекса РНК/ДНК в гонадах и мантии высокие, что указывает на интенсивное протекание белкового синтеза в обеих тканях. В летний период значения этих показателей максимальны. Низкие величины РНК и РНК/ДНК в обеих тканях приходится на репродуктивные периоды и свидетельствуют о замедлении и приостановке роста.

12. Установлена экспериментально линейная зависимость между величинами соотношения РНК/ДНК и содержанием белка (в расчете как на сухую, так и на сырую массу) в теле неполовозрелых мидий. Это позволяет рекомендовать данные по содержанию белка для коли-

чественной характеристики ретенции белка мидий.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Щербань С.А. Содержание РНК в теле мидии *Mutilus galloprovincialis* как показатель ее функционального состояния //Тез. докл. IV Всесоюз.конф. по промышленным беспозвоночным.- Севастополь, апрель 1986.-Ч.2.-С.321-322.
2. Щербань С.А. Физиолого-биохимические индикаторы роста черноморской мидии //Тез.докл.Всес.научн.конф.молодых ученых "Вклад молодых ученых-комсом. в решении соврем.проблем океанологии и гидробиологии. - Севастополь, октябрь 1987. Б/И. - С.55.
3. Щербань С.А. Соотношение РНК/ДНК как показатель интенсивности белкового роста черноморской мидии *Mutilus galloprovincialis* //Тез.докл. II Всес.конф. по морской биологии (Симпозиум по онтогенезу морских беспозвоночных).-Севастополь, октябрь 1988.- Владивосток.- 1988. - С. 72-73.
4. Щербань С.А. Соотношение между индексом РНК/ДНК, содержанием белка и сухим весом у мидий в условиях кратковременного эксперимента //Гидробиол.журн.-1992.- XXIII. - № 3. - С.60-64.
5. Щербань С.А. Динамика содержания белка и индекса РНК/ДНК в генеративной и соматической тканях черноморской мидии *Mutilus galloprovincialis* //Рукопись деп. в ВИНИТИ 19.02.1991, № 846-В 91.
6. Щербань С.А., Аболмасова Г.И. Роль мидии *Mutilus galloprovincialis* в бухте Ласпи Черного моря //Биология моря.-1991.- № 2. -С. 82-89.
7. Щербань С.А., Столбов А.Я. Дыхательные коэффициенты и интенсивность тканевого дыхания черноморской мидии *Mutilus galloprovincialis* в различные периоды годового цикла //Гидроб.журн.-1991.- XXII. - Вып. 2.- С.57-62.
8. Аболмасова Г.И., Щербань С.А. Рост мидий *Mutilus galloprovincialis* на протяжении годового цикла в бухтах Ласпи и Качабы (р-н Севастополя) //Экология моря.-1991. -Вып.38.- С.88-92.