

УДК 594.1(591.044:581.036)

Ю. М. Красюк

**ВПЛИВ КОЛИВАНЬ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР НА
ФЕРМЕНТАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ТА ВМІСТ
ЕНЕРГЕТИЧНИХ СПОЛУК У ЗЯБРАХ
UNIO TUMIDUS**

Досліджено вплив тривалих коливань підвищених температур на вміст енергетичних сполук та ферментативну активність у зябрах прісноводного двостулкового молюска *Unio tumidus*. Відмічено зниження вмісту глікогену і загального білка, одночасно виявлені різнонаправлені зміни вмісту загальних ліпідів та інтенсивності перекисного окислення ліпідів. Встановлено залежність активності АТФ-ази у зябрах *U. tumidus* від впливу коливання підвищених температур водного середовища.

Ключові слова: перлівниця, *Unio tumidus*, зябра, підвищена температура, енергетичні субстрати, малоновий діальдегід, активність АТФази.

Останнім часом внаслідок кліматичних змін підвищується температура повітря та водного середовища [4, 5, 14, 17]. Особливо теплового навантаження зазнають мілководні ділянки водойм, які характеризуються значними сезонними і добовими коливаннями температури [1, 8, 10, 24]. Зростання середньої температури води на мілководді часто призводить до зміщення верхньої межі діапазону коливань у вищу сторону. При цьому наслідки для біоти можуть бути непередбачувані.

Дослідження ферментативної активності та енергетичних процесів обміну в організмі молюсків за таких умов дасть можливість визначити їх біохімічний стан. Метою роботи було вивчити адаптивні можливості організму при щодобовому коливанні температури води від оптимальних до підвищених значень на прикладі прісноводного двостулкового молюска перлівниці *Unio tumidus* (Philipsson, 1788).

Матеріал і методика досліджень. Експерименти проводили у Біотехнологічному комплексі Інституту гідробіології НАН України на перлівницях *Unio tumidus* [9, 16, 23, 28]. Довжина черепашки становила $71,29 \pm 4,39$ мм, висота — $34,14 \pm 2,34$ мм. Зябрової вагітності у досліджених особин відмічено не було (початок липня). Експерименти проводили в акваріумах об'ємом 100 дм^3 при постійній аерації та перемішуванні за допомогою во-

© Ю. М. Красюк, 2018

дної помпи, що дозволяло підтримувати вміст кисню в межах 7,45—7,68 мг/дм³.

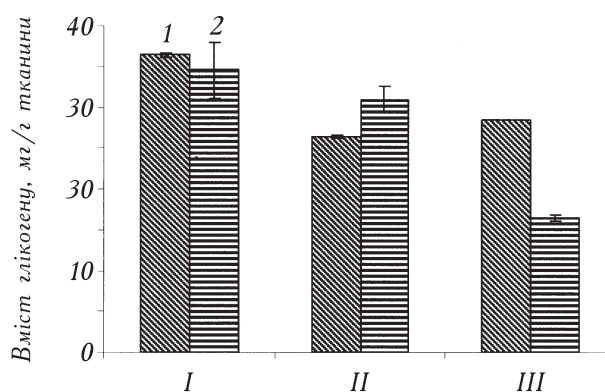
Оцінку пристосування організму *U. tumidus* до змін температури водного середовища проводили в умовах динамічної дії чинника, а саме циклічних добових коливань у діапазонах 22,5—28,0°C і 22,5—30,0°C. Перші 12 годин температура підвищувалась до верхньої межі діапазону, наступні 12 знижувалась до вихідної, при цьому швидкість змін становила відповідно 0,46 і 0,63°C/год. У контролі температура води була на рівні 22,5°C.

На 7-му і 14-ту добу експерименту було відібрано зяброву тканину, у якій визначали активність Na, К-активуючої Mg-залежної АТФ-ази [3, 15], вміст загального білка [19], загальних ліпідів [32], глікогену [19] та малонового діальдегіду [22]. Отриманий матеріал оброблений статистично із застосуванням *t*-критерію Стьюдента за допомогою програми Statistica v. 6. [20, 25].

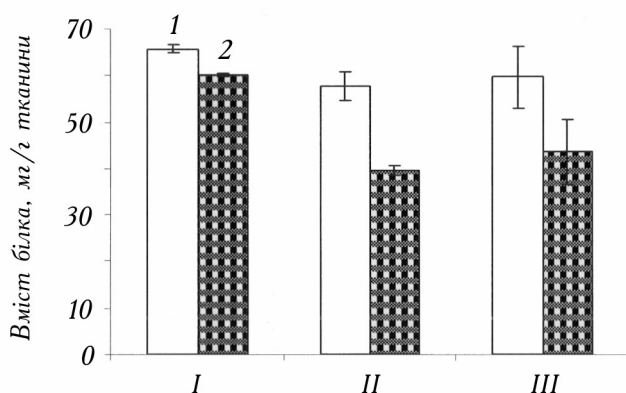
Результати дослідження та їх обговорення

Відомо, що в організмі молюсків головними енергетичними сполуками є глікоген і білки [11, 30], за несприятливих умов на енергозабезпечення адаптаційних процесів першим використовується глікоген [29]. На 7-у добу при діапазонах 22,5—28,0 і 22,5—30,0°C вміст глікогену достовірно знижувався відповідно на 27,7 і 21,9%, а на 14-у — на 10,4 і 52,2% порівняно з контролем (рис. 1). Ймовірно, щодобові коливання температури від оптимальної 22,5°C до 28,0 і 30,0°C викликали у зябрах перлівниці активацію енергоємних процесів, на забезпечення яких був використаний глікоген.

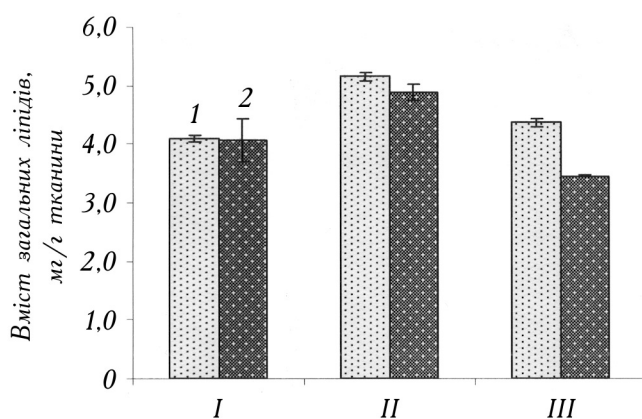
Також слід відмітити, при діапазоні коливань 22,5—28,0°C на 14-у добу вміст глікогену у зябрах молюсків підвищився на 14,9% порівняно з 7-ю. Відомо, що на енергозабезпечення використовуватись і неуглеводневі сполуки (ліпіди, білки тощо) [6, 12, 21]. Тому виявлене зростання вмісту глікогену, очевидно, відбулося за рахунок збільшення частки використання білка. Це підтверджувалось зниженням кількості білка у зябрах молюска при цьому діапазоні на 14-у добу на 34,0% порівняно з контролем (рис. 2). При діапазоні 22,5—30,0°C на 14-у добу вміст загального білка в зябрах перлівниці знижувався на 27,4% порівняно з контролем. Це, ймовірно, свідчить про подальше зростання енер-



1. Вміст глікогену у зябрах перлівниці *Unio tumidus* при добовому коливанні температури води. Тут і на рис. 2—5: 1 — 7-а доба; 2 — 14-а доба; I — контроль; II — діапазон 22,5—28,0°C; III — діапазон 22,5—30,0°C. $M \pm m$, $n = 10$.



2. Вміст загального білка у зябрах перлівниці *Unio tumidus* при добовому коливанні температури води.



3. Вміст загальних ліпідів у зябрах перлівниці *Unio tumidus* при добовому коливанні температури води.

говитрат, спрямованих на пристосування до впливу коливань температури середовища.

Рівень метаболізму, зокрема енергетичного, визначає адаптивні можливості організму. Відмічена важлива роль ліпідів як джерела енергії при пристосуванні гідробіонтів до несприятливих чинників водного середовища [2, 6, 18, 27]. Вміст загальних ліпідів у зябровій тканині *Unio tumidus* при діапазонах 22,5—28,0 і 22,5—30,0°C на 7-у добу достовірно зріс відповідно на 25,9 і 6,6%, на 14-у при 22,5—28,0°C зріс на 20,2%, а при 22,5—30,0°C — знизився на 14,8% порівняно з контролем (рис. 3).

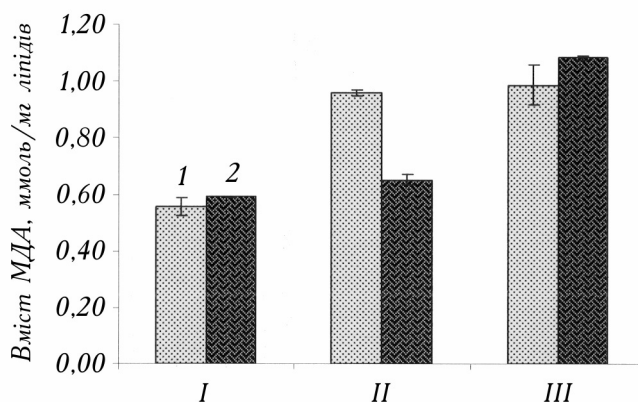
Це явище пояснюється тим, що при інтенсифікації енергетичних процесів за рахунок вуглеводів про-

дукти катаболізму глікогену можуть використовуватись на синтез ліпідів [31, 33]. Слід зазначити, що на 14-у добу при діапазоні 22,5—30,0°C вміст загальних ліпідів у зябрах молюска знизився на 14,8%, що очевидно, зумовлено порушенням енергообміну у зябровій тканині перлівниць за тривалої дії підвищеної температури.

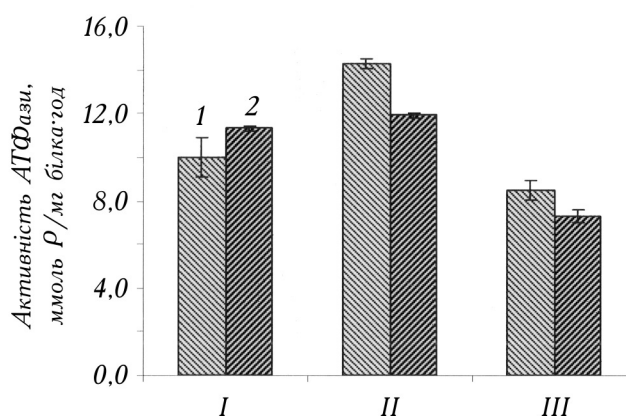
Відомо, що достатньо інформативним індикатором порушення стану організму є посилення перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), одним із кінцевих продуктів якого є малоновий діальдегід (МДА) [7, 13]. Вміст МДА у зябрах молюсків дослідних груп був вищий, ніж у контролі: на 7-у добу при діапазонах 22,5—28,0 і 22,5—30,0°C його вміст достовірно зріс на 43,0 і 44,4% відносно контролю, а на 14-у — відповідно на 9,5 і 45,0% (рис. 4). Отже, вплив добових коливань температури очевидно, викликав зміни у ліпідному

обміні, що і призвело до посилення утворення продуктів ПОЛ, зокрема МДА у зябровій тканині *Unio tumidus*.

На 14-у добу відмічено відмінності у ліпідному обміні моллюсків при різних діапазонах. Так, при 22,5–28,0°C вміст МДА у зябрах перлівниці знизився на 32,3%, а при 22,5–30,0°C — зріс на 8,3% відносно показників на 7-у добу. Ймовірно, зниження інтенсивності ПОЛ при режимі 22,5–28,0°C може свідчити про проявлення організмом резистентних властивостей. Підтвердженням можливої температурної адаптації є рівень активності АТФ-ази, що на 14-у добу при цьому діапазоні був близьким до контрольного значення (рис. 5). У той же час при діапазоні 22,5–30,0°C активність ферменту на 7-у і 14-у добу була достовірно нижчою ніж у контролі відповідно на 14,9 та 35,7%, що, очевидно, було викликано негативним впливом цього температурного режиму і призвело до певних порушень регуляторних процесів в організмі моллюсків *Unio tumidus*.



4. Вміст малонового діальдегіду у зябрах перлівниці *Unio tumidus* при добовому коливанні температури води.



5. Активність АТФ-ази у зябрах перлівниці *Unio tumidus* при добовому коливанні температури води.

Висновки

При добовому коливанні температури води у діапазонах 22,5–28,0 і 22,5–30,0°C впродовж семи і 14 діб виявлені відмінності у резистентних можливостях *U. tumidus*. На 7-у добу при обох температурних режимах у зябрах моллюсків відбувалась активація енергоємних процесів.

На 14-у добу вплив коливань температури у діапазоні 22,5—30,0°C призвів до певних порушень енергообміну у тканині зябер, що викликало зниження вмісту загальних ліпідів. Зокрема, на фоні енергетичних затрат відмічено зростання вмісту МДА — одного із кінцевих продуктів ПОЛ, що вказує на порушення перебігу метаболічних процесів. При цьому активність ферменту АТФ-ази у зябрах моллюсків була нижчою, ніж у контролі.

На відміну від температурного режиму 22,5—30,0°C, при діапазоні 22,5—28,0°C на кінець експерименту (14-а доба) відбувалась регуляція активності АТФ-ази, зниження вмісту МДА в зябровій тканині, що, ймовірно, свідчить про певну адаптацію *Unio tumidus* до цих умов середовища.

**

Исследовано влияние длительных колебаний повышенных температур на содержание энергетических соединений и ферментативную активность в жабрах пресноводного двустворчатого моллюска Unio tumidus. Отмечено снижение содержания гликогена и общего белка. Одновременно были установлены изменения содержания общих липидов и интенсивности перекисного окисления липидов. Установлена зависимость активности АТФ-азы в жабрах U. tumidus от влияния колебания повышенных температур водной среды.

**

The effect of the prolong oscillation of water temperature on content of the energy substances and ATP-ase activity in the gill of the freshwater bivalve mollusk Unio tumidus has been studied. The decrease of glycogen and total protein was content noted. Simultaneously, the changes of total lipids content and intensity of lipid peroxidation were revealed.

**

1. Авакян В.Б., Салтанкин В.П., Шарапов В.А. Водохранилища. — М.: Мысль, 1987. — 325 с.
2. Алешко С.А. Активность антиоксидантных ферментов и уровень перекисного окисления липидов у рыб и двустворчатых моллюсков из залива Петра Великого (Японское море) // Современ. проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Матер. второй науч. конф. с уч. стран СНГ, 11—14 сент. 2007 г. — Петрозаводск, 2007. — С. 13—14.
3. Асатиани В.С. Ферментативные методы анализа. — М.: Наука, 1969. — 740 с.
4. Бейтс Б.К., Кундцевич З.В., Плотникова Ж.П. Изменение климата и водные ресурсы. Технический документ Межправительственной группы экспертов по изменению климата. — Женева: Секретариат МГИЭК, 2008. — 228 с.
5. Голченко Е.Д., Лобода Н.С. Оценка возможных изменений водных ресурсов Украины в условиях глобального потепления // Гидробиол. журн. — 2000. — Т. 36, № 3. — С. 67—77.
6. Горомосова С. А., Шапиро А. З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. — М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1984. — 120 с.
7. Гостюхина О. Л. Особенности антиоксидантного статуса тканей двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. в условиях окислите-

- льного стресса: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Симферополь, 2008. — 25 с.
8. Денисова А.И. Формирование гидрохимического режима водохранилищ Днепра и методы его прогнозирования. — Киев: Наук. думка, 1979. — 289 с.
 9. Жагин В. И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1952. — 376 с.
 10. Зимбалева Л.Н., Пикуш Н.В., Кудина А.В. и др. Мелководья Кременчугского водохранилища. — Киев: Наук. думка, 1979. — 283 с.
 11. Иванович Г.В. Динаміка вмісту глікогену та сумарних ліпідів у мідій *Mytilus galloprovincialis* Lam. Одеської затоки: Автореф. дис... канд. біол. наук. — Севастополь, 2005. — 23 с.
 12. Киричук Г.С. Фізіолого-біохімічні механізми адаптації прісноводних молюсків до змін біотичних та абіотичних чинників водного середовища: Автореф. дис. ... докт. біол. наук. — К., 2011. — 44 с.
 13. Климова Я. С., Чуйко Г. М. Антиоксидантный статус пресноводных двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis* (Dreissenidae, Bivalvia) из Волжского плеса Рыбинского водохранилища // Поволжский экол. журн. — 2015. — № 1. — С. 33 — 41.
 14. Клімат Києва / Під ред. В. І. Осадчого. В. М. Бабіченко. — К.: Ніка-центр, 2010. — 320 с.
 15. Кондрашова М.Н., Лесогорова М.Н., Шноль С.Э. Метод определения неорганического фосфора по спектрам поглощения в ультрафиолете // Биохимия. — 1965. — Т. 30, вып. 3. — С. 567—572.
 16. Корнюшин А.В. О видовом составе пресноводных двустворчатых моллюсков Украины и стратегии их охраны // Вестн. зоологии. — 2002. — Т. 36, № 1. — С. 9—23.
 17. Николаева Л., Денисов Н., Новиков В. Изменение климата в Восточной Европе. Беларусь, Молдова, Украина. — Брессон: Zoï environmental network, 2011. — 60 с.
 18. Попова Е.М., Коцій І.В. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу // Рибогосп. наука України. — 2007. — № 1. — С. 49—56.
 19. Практикум по биохимии / Под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. — 510 с.
 20. Рокицкий П.Ф. Основы вариационной статистики для биологов. — Минск: Изд-во Белорус. ун-та, 1961. — 220 с.
 21. Семченко В.В., Голенкова Н.В., Стрельчик Н.В. Анатомия и гистология сельскохозяйственных животных и гидробионтов. — М.; Берлин: Директ-Медиа, 2015. — Ч. 2. — 151 с.
 22. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитировой кислоты // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66—68.
 23. Старобогатов Я. И. Класс Двустворчатые моллюски Bivalvia // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос). — Л.: Гидрометеиздат, 1977. — С. 123—151.

24. Тімченко В. М., Линник П. М., Холодько О. П. та ін. Абіотичні компоненти екосистеми Київського водосховища. — К.: Логос, 2013. — 58 с.
25. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1975. — 295 с.
26. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. — М.: Мир, 1988. — 568 с.
27. Шахматова О. А. Отклик гидробионтов на стрессовые факторы морских экосистем // Экосистемы, их оптимизация и охрана. — 2012. — Вып. 7. — С. 98—113.
28. Шкорбатов Г. Л., Старобогатов Я. И. Методы изучения двустворчатых моллюсков. — Л., 1990. — 205 с.
29. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические исследования гидробионтов // Экология моря. — 1996. — Вып. 45. — С. 38—45.
30. Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А.Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Успехи совр. биологии. — 1993. — Т. 113, вып. 5. — С. 576—586.
31. Fokina N., Nemova N., Nefedova Z. Fatty acid composition of mussels *Mytilus edulis* under short term anoxia // Chemistry and physics of lipids. Abstr. 48th Intern. Conf. on the Bioscience of Lipids (Turku, Finland, 4—8 sept. 2007). — Turku, 2007. — Vol. 149. — P. 60.
32. Knight J.A., Anderson S., Rawle J.M. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids // Clin. chem. — 1972. — Vol. 18, N 3. — P. 199—202.
33. Michaelidis B., Pallidou A., Vakouftsi P. Effects of anoxia on the extra- and intracellular acid-base status in the land snail *Helix lucorum* (L.): lack of evidence for a relationship between pyruvate kinase down regulation and acid-base status // J. Exp. Biol. — 1999. — Vol. 202. — P. 1667—1675.