

УДК 664.951.7:639.4

Н.Н. Ковалев, Ю.М. ПоздняковаДальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б**СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА
И ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛОСТНОЙ ЖИДКОСТИ ТРЕПАНГА**

Представлены результаты исследования содержания белка и активности протеолитических ферментов полостной жидкости дальневосточного трепанга. Установлено массовое соотношение целомиической жидкости к массе тела трепанга. Исследования показали тенденцию убывания содержания водорастворимого белка в целомиической жидкости трепанга с апреля по октябрь. Максимальная активность наблюдалась для протеолитических ферментов в октябре для щелочных и нейтральных протеаз.

Ключевые слова: трепанг, целомиическая жидкость, протеолитическая активность.

N.N. Kovalev, Y.M. Pozdnyakova**THE SEASONS DYNAMICS OF COMPONENT
AND ENZYMATIC ACTIVITY OF SEA CUCUMBER COELOMIC FLUID**

The results of the study of protein content and activity of proteolytic enzymes cavity fluid Far Eastern trepang were presented. The weight ratio of the coelomic fluid to the body weight of sea cucumber was established. Studies have shown a tendency of decrease of the water-soluble protein content in the coelomic fluid of sea cucumber from April to October. Maximum activity for the proteolytic enzymes in October for the alkaline and neutral proteases was observed.

Key words: sea cucumber, coelomic fluid, proteolytic activity.

Ферментные системы гидробионтов как биохимические маркеры дают адекватную информацию о нарушениях состояния гидробионтов в условиях загрязнения среды обитания. Использование ферментных систем морских животных как индикаторов состояния среды удобно в тех случаях, когда определить содержание токсикантов в воде химическими методами затруднительно вследствие их низкой и непостоянной концентрации [1].

В то же время известно, что биохимические показатели водных организмов характеризуются сезонной динамикой, которая в большей мере определяется физиологическим состоянием объекта и температурой среды его обитания. Так, накопление белков теплового шока в пищеварительной железе и жабрах мидий (*Mytilus galloprovincialis*) имеет четко выраженную сезонную динамику: максимальное накопление белка обнаружено в летний период. Значимая корреляция между содержанием белков теплового шока и температурой воды предполагает либо прямое влияние температуры на экспрессию белка, либо косвенное влияние, обусловленное наличием продовольствия и роста [2]. Дальневосточный трепанг, обитающий в бухте Северной Приморского края, может служить объектом, по биохимическому составу тканей которого можно судить о сезонных изменениях среды обитания.

Целью настоящего исследования явилось исследование содержания белка и активности протеолитических ферментов полостной жидкости дальневосточного трепанга в течение годового цикла.

В качестве объектов исследования использовали дальневосточный трепанг (*Apostichopus japonicus*), выловленный в бухте Северной с апреля по октябрь 2015 г. (зал. Славянка, Японское море).

Содержание белка определяли по методу Лоури [3]. Протеолитическую активность – по методу Каверзневой [4].

Ранее проведенными в НИЦ «Морские биотехнологии» исследованиями установлено массовое соотношение различных тканей и органов трепанга, выловленного в бухте Северной (таблица).

Массовый состав трепанга, % к массе
The mass composition of sea cucumber, % by weight

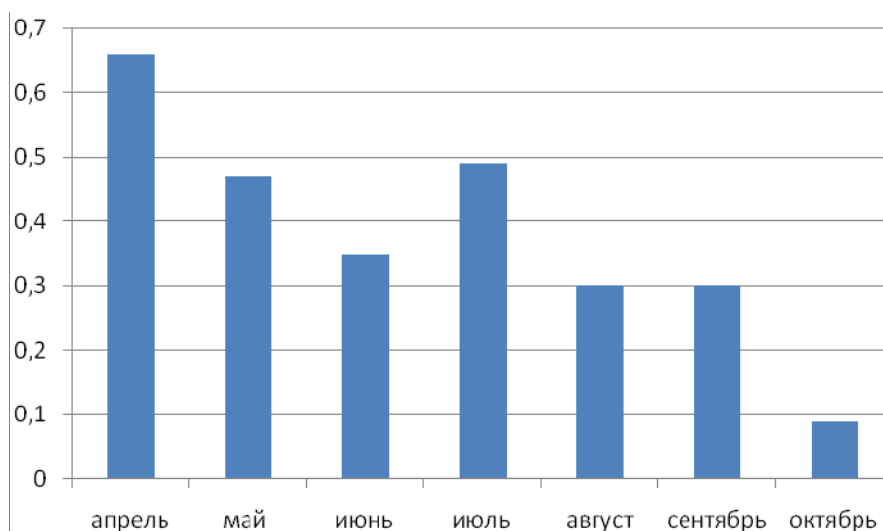
Время вылова	Мускульная оболочка	Внутренности (гонады)	Щупальцы	Внутриполостная жидкость
Март	36,8	31,5 (0)	7,1	24,6
Апрель	37,2	30,6 (3,5)	7,4	24,8

Как видно из приведенных в таблице данных, целомическая (внутриполостная) жидкость составляет около 25 % массы тела трепанга.

Целом (углубление, полость) – вторичная полость тела многоклеточных животных. У трохофорных образуется из специализированных мезодермальных клеток – телобластов – в результате их деления и последующего образования полостей внутри образующихся групп клеток. Такой способ образования целома в онтогенезе называется телобластический. У вторичноротых целом формируется путем выпячивания стенок первичной кишки и отделения образующихся выпячиваний. Такой способ образования целома называется энтероцельный. В обоих случаях целом считается мезодермальным образованием. Отличается от первичной полости тела наличием собственной эпителиальной выстилки (стенки). Эпителий, образующий выстилку целома, называется целотелий или мезотелий. Целом заполнен специальной жидкостью, которая участвует в обмене веществ. У разных групп животных целом может быть связан с работой пищеварительной, кровеносной, выделительной и других систем органов, а иногда функционально заменяет некоторые из них. Через стенки целома в его полость поступают питательные вещества из кишечника; затем они доставляются к тканям. В целомической жидкости плавают специальные клетки, в некоторых из них питательные вещества могут накапливаться про запас. В целом из всех органов тела поступают и вредные продукты обмена веществ. Отсюда они выводятся наружу через органы выделения [5].

В целомической жидкости трепанга, выловленного с мая по октябрь 2015 г., было определено содержание водорастворимого белка. Отмечено, что концентрация белков в целомической жидкости трепанга значительно варьирует в зависимости от сезона. В целом концентрация белка снижается в осенний период (рис. 1).

Рис. 1. Динамика изменений концентрации белка в целомической жидкости трепанга (мг/мл)
Fig. 1. Dynamics of changes in the concentration of protein in the coelomic fluid sea cucumber (mg / ml)



Кроме того, в настоящей работе проводили исследование активности протеолитических ферментов внутриполостной жидкости трепанга при различных значениях pH.

Приведенные на рис. 2 данные свидетельствуют о наличии протеолитической активности. Нейтральные и щелочные протазы целомической жидкости трепанга, выловленного в октябре, характеризуются равной величиной активности – 0,005 Е/мл или 0,06 Е/мг белка. Активность кислых протеаз выявлена только у трепанга, выловленного в июле. В гемолимфе трепанга, выловленного в сентябре, выявлена активность только кислых протеаз.

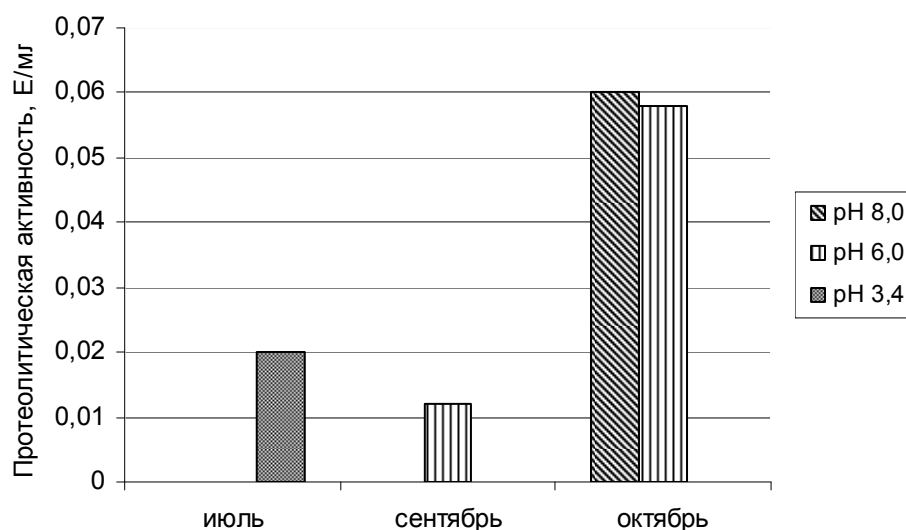


Рис. 2. Протеолитическая активность в целомической жидкости трепанга
Fig. 2. The proteolytic activity in the coelomic fluid of sea cucumber

Таким образом, проведенные исследования показали тенденцию убывания содержания водорастворимого белка в целомической жидкости трепанга с апреля по октябрь. Активность протеолитических ферментов максимальна в октябре для щелочных и нейтральных протеаз. Очевидно, уровень активности фермента является отражением процессов катаболизма и анаболизма трепанга в указанный период.

Список литературы

1. Кулис, Ю.Ю. Аналитические системы на основе иммобилизованных ферментов / Ю.Ю. Кулис. – Вильнюс: Мокслас, 1981. – 200 с.
2. Minier C., Borghi V., Moore M.N., Porte C. Seasonal variation of MXR and stress proteins in the common mussel, *mytilus galloprovincialis* // *Aquatic Toxicology*. – 2000. – Vol. 50, № 3. – P. 167–176.
3. Lowry O., Rosenbrough N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–276.
4. Каверзнева, Е.Д. Стандартный метод определения протеолитической активности для комплексных препаратов протеаз / Е.Д. Каверзнева // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 1971. – Т. 7, № 2. – С. 225–228.
5. Каменев, Я.О. Ультраструктура внутренних органов, бесполое размножение и регенерация у голотурии *Cladolabes schmeltzii*: дис. ... канд. биол. наук / Я.О. Каменев. – Владивосток, 2013. – 121 с.

Сведения об авторах: Ковалев Николай Николаевич, доктор биологических наук, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru;
Позднякова Юлия Михайловна, кандидат технических наук, e-mail: pozdnyakova.julia@yandex.ru.