

# Wpływ struktury populacji i czynników środowiskowych na zawartość hydroksyproliny i kolagenu w skorupiakach bałtyckich

Agnieszka Kąkol

Celem pracy jest określenie zależności pomiędzy strukturą populacji czterech gatunków skorupiaków bałtyckich a zawartością hydroksyproliny i kolagenu, a także określenie wpływu hydroksyproliny i kolagenu na procesy życiowe (wzrost i rozród) tych zwierząt. Istotą badań jest ustalenie powiązań pomiędzy poziomem hydroksyproliny i kolagenu a wielkością, płcią i rejonem występowania *Crangon crangon* (Linnaeus, 1758), *Palaemon elegans* Rathke, 1837, *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 i *Saduria entomon* (Linnaeus, 1758), jak również sezonem, temperaturą i zasoleniem wody.

Organizmy do badań zebrano w 2008 i 2009 roku w różnych rejonach Zatoki Gdańskiej (Bałtyk Południowy). *C. crangon* złowiono w dwóch profilach głębokościowych (profil gdyński: G1 – 10 m, G2 – 14 m, G3 – 17 m; profil sopocki: S1 – 8 m, S2 – 10 m, S3 – 15 m). *P. elegans* i *P. adspersus* zebrano w Porcie Jachtowym w Gdyni (stacja PJG) z głębokości 0,5 – 1 m. *S. entomon* pobrano z głębokości 50 m na stacji Góra Szwedów (stacja GS, położona w otwartej części Morza Bałtyckiego). W obrębie danego gatunku osobniki podzielono na cztery grupy pod względem płci: juwenilne, samce, samice (nieposiadające jajeczek), samice noszące jajeczka. W każdej z tych grup, organizmy przyporządkowano do jednocentymetrowych klas długości. W miejscach zbioru zwierząt dokonywano dodatkowo pomiaru temperatury i zasolenia wody nad dnem. Do badań hydroksyproliny i kolagenu u badanych gatunków wykorzystano jedynie samce, samice (nieposiadające jajeczek) i samice noszące jajeczka. Poziom hydroksyproliny wyznaczano w tkankach *C. crangon*, *P. elegans*, *P. adspersus* i *S. entomon* zebranych w 2008 roku. U *C. crangon* i *S. entomon* złowionych w 2009 roku oraz u *P. elegans* zebranych w 2008 roku ekstrahowano kolagen i dodatkowo analizowano w nim ilość hydroksyproliny. Aby określić ilość hydroksyproliny w tkankach badanych skorupiaków i w kolagenie wykorzystano metodę kolorymetryczną. Do wyekstrahowania kolagenu użyto pepsyny. W celu określenia budowy tego białka i jego składowych zastosowano elektroforezę w żelu poliakrylamidowym.

Wyniki niniejszej pracy wskazują, że hydroksyprolina zaangażowana jest w różnorodne procesy fizjologiczne u bezkręgowców bałtyckich. Ilość hydroksyproliny różni się pomiędzy badanymi gatunkami, co powiązane jest z ich przynależnością do odmiennych grup taksonomicznych, a co za tym idzie z ich biologią i ekologią, trybem życia i strukturą populacji. Stwierdzono, że spośród czterech badanych gatunków skorupiaków największą ilość hydroksyproliny w tkankach posiada *S. entomon* ( $2,13 \pm 0,38 \mu\text{g}/100 \text{ mg s.m.}$ ), a najmniejszą *P. adpersus* ( $1,05 \pm 0,17 \mu\text{g}/100 \text{ mg s.m.}$ ). Z kolei wśród trzech gatunków dziesięcionogów największym poziomem hydroksyproliny charakteryzuje się *C. crangon*. Poziom tego aminokwasu u *C. crangon*, *P. elegans* i *S. entomon* określono osobno u samców, samic (nieposiadających jajeczek) i samic noszących jajeczka. U *P. adpersus* do badań hydroksyproliny wykorzystano jedynie samice nieposiadające jajeczek należące do jednej klasy długości, w związku z czym nie jest możliwe określenie wpływu wielkości i płci na poziom hydroksyproliny u tego gatunku. Wyniki niniejszej pracy wskazują, że u *P. elegans* płeć osobników wpływa w sposób znaczący na poziom hydroksyproliny ( $\alpha < 0,05$ ). Zależność taką stwierdzono jedynie pomiędzy samcami i samicami noszącymi jajeczka. Nie stwierdzono istotnych korelacji pomiędzy pozostałymi grupami ( $\alpha > 0,05$ ). Z kolei u *C. crangon* i *S. entomon* stwierdzono istotną zależność pomiędzy płcią osobników a poziomem badanego aminokwasu ( $\alpha < 0,05$ ). Samce tych dwóch gatunków posiadają wyższe zawartości hydroksyproliny, niż samice nieposiadające jajeczek. Jednak w okresie rozrodu największymi ilościami Pro-OH w tkankach charakteryzują się samice noszące jajeczka. Świadczy to o znaczącej roli tego aminokwasu w procesach rozrodczych *C. crangon* i *S. entomon*. Wskazuje to również na odmienne gospodarowanie hydroksyproliną przez osobniki różnej płci u badanych gatunków. U *C. crangon*, *P. elegans* i *S. entomon* zawartość hydroksyproliny analizowano w różnych przedziałach długości. W przypadku *P. elegans* poziom hydroksyproliny nie jest skorelowany z długością ciała samców i samic ( $\alpha > 0,05$ ), co sugeruje, że osobniki te wykorzystują hydroksyprolinę w równym stopniu zarówno na procesy wzrostu, jak i rozrodu. U *C. crangon* i *S. entomon* stwierdzono istotną zależność ( $\alpha < 0,05$ ) pomiędzy wielkością osobników a ilością Pro-OH. Wskazuje to, że zarówno produkcja, jak i zużywanie hydroksyproliny oraz kolagenu u tych gatunków są ściśle powiązane z procesami wzrostu oraz starzeniem się organizmów. Poziom hydroksyproliny u *C. crangon*, *P. elegans* i *S. entomon* z Zatoki Gdańskiej ulega zmianom w ciągu roku w zależności od etapu rozwoju organizmów oraz dojrzałości płciowej. Mają na to wpływ

również czynniki środowiskowe, takie jak temperatura wody oraz dostępność i jakość pokarmu. Badane gatunki posiadają wyższe zawartości hydroksyproliny, gdy temperatura wody ulega podwyższeniu. Ze względu na niewielkie różnice w zasoleniu wody pomiędzy punktami zbioru gatunków, przyjęto, że czynnik ten nie wpływa u nich w sposób znaczący na poziom hydroksyproliny. W obrębie Zatoki Gdańskiej analizowano wpływ rejonu i głębokości występowania *C. crangon* na poziom hydroksyproliny. Osobniki tego gatunku zebrano z dwóch profili głębokościowych, położonych w stosunkowo bliskim sąsiedztwie i o zbliżonych warunkach środowiskowych. Wpłynęło to na brak korelacji pomiędzy rejonem i głębokością występowania a ilością Pro-OH u *C. crangon*. Istotną przyczyną jest również duża mobilność garneli.

Ze względu na posiadanie hydroksyproliny przez *C. crangon*, *P. elegans*, *P. adspersus* i *S. entomon* z Zatoki Gdańskiej, stwierdzono, że posiadają one kolagen. Największą średnią zawartością tego białka charakteryzuje się *C. crangon*, a najmniejszą *S. entomon*. Z samców *C. crangon* i *S. entomon* wypreparowano więcej kolagenu w porównaniu z samicami. Jednak u *C. crangon* poziom hydroksyproliny w kolagenie jest wyższy u samic niż u samców, a największą jej ilość posiadają samice noszące jajeczka. U *P. elegans* ilość posiadanego kolagenu u samców i samic jest zbliżona. Przeprowadzone rozdziały elektroforetyczne wskazują na różnice pomiędzy badanymi gatunkami pod względem molekularnej masy podjednostek tego białka. Kolagen wyekstrahowany z tkanek skorupiaków z Zatoki Gdańskiej wykazuje podobieństwo w składzie podjednostek do kolagenu typu I kręgowców.

Wyniki niniejszej pracy wskazują, że hydroksyprolina jest aminokwasem o dużym znaczeniu w procesach fizjologicznych skorupiaków z Zatoki Gdańskiej, a jej ilość może być wskaźnikiem zachodzących zmian w ciele pojedynczych osobników, a w szerszym pojęciu również w danej populacji. Wykazano powiązania pomiędzy strukturą populacji a ilością hydroksyproliny, co potwierdzają zmiany ilości tego aminokwasu w zależności od wielkości i płci osobników danego gatunku w określonych porach roku. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że hydroksyprolina pełni ważną rolę w procesach wzrostu, rozwoju osobniczego oraz rozrodu badanych gatunków. Ponadto, informacje o jej zawartości w tkankach skorupiaków z Zatoki Gdańskiej, pozwoliły na stwierdzenie obecności kolagenu i podjęcie dokładniejszych badań tego białka. Określone różnice w ilości i składzie podjednostek tego białka pomiędzy skorupiakami z Zatoki Gdańskiej wskazują, na różnorodność oraz złożoność jego budowy. Może to sugerować, że kolagen i zawarta w nim hydroksyprolina

są wykorzystywane w odmienny sposób w zależności od gatunku i cech osobniczych, a także od warunków otoczenia danego zwierzęcia.