

were the most similar in phenetics. The most different were the specimens of green frogs from small ponds and discharge water canal of Dobrotvir TPP.

Keywords: phenotype, population system, Pelophylax ridibundus, Pelophylax lessonae, Pelophylax esculentus, reservoirs of various economic purpose

УДК 547.915: 639.215.2

Ю.І. СЕНИК, О.О. РАБЧЕНЮК, В.З. КУРАНТ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна

ЗМІНИ ФОСФОЛІПІДНОГО СКЛАДУ МІТОХОНДРІЙ КЛІТИН ПЕЧІНКИ КОРОПА ТА ЩУКИ ЗА ДІЇ ЙОНІВ КАДМІЮ

Досліджено вплив йонів кадмію у кількості 0,5 і 2 ГДЖр на ліпідний склад мітохондрій клітин печінки коропа (*Cyprinus carpio* L.) та щуки (*Esox lucius* L.). Встановлено, що дія підвищених концентрацій металу викликає структурно-функціональні зміни фосфоліпідного складу мітохондрій досліджуваних видів риб, які спрямовані на протидію прямому та опосередкованому впливу йонів Cd²⁺.

Ключові слова: короп, щука, мітохондрії печінки, фосфоліпіди, кадмій

Одним із механізмів адаптації до надлишкового надходження йонів металів є структурна перебудова ліпідного бішару мембран [5]. Проте, незважаючи на актуальність, їх вплив на ліпідний обмін у водних організмів вивчено недостатньо, оскільки, більшість досліджень проведено на вищих хребетних тваринах [1]. Щодо риб, то досліджено роль ліпідів в адаптації до інших екологічних чинників [3].

Враховуючи, що йони металів можуть проникати з води в організм риб і змінювати спрямованість багатьох обмінних процесів [4], предметом нашого дослідження стало вивчення участі ліпідів мітохондрій клітин печінки коропа і щуки (представника миролюбивих риб та хижака) в адаптації їх організму до дії йонів кадмію.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на дворічках коропа (*Cyprinus carpio* L.) та щуки (*Esox lucius* L.), масою 350–400 г, яких утримували в акваріумах об'ємом 200 л з відстояною водопровідною водою, яку змінювали щодобово, за наступних умов: вміст O₂ – 7,5±0,5 мг/дм³; CO₂ – 2,5±0,3 мг/ дм³; рН – 7,8±0,1. У кожному акваріумі утримувалось по 5 особин. Риб під час експерименту не годували.

Досліджували вплив 0,005 мг/дм³ і 0,02 мг/дм³ йонів Cd²⁺, що становить, відповідно, 0,5 та 2 рибогосподарські граничнодопустимі концентрації (допорогова і сублетальна). Період аклімації риб становив 14 днів, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на дію стрес-фактору.

Після зазначеного терміну риб декапітували та на холоді проводили екстирпацію передньої долі печінки. Виділення субклітинних компонентів проводили при температурі +4°C, ультрацентрифугуванням.

Для екстрагування загальних ліпідів до мітохондріальної фракції додавали хлороформ-метанолу суміш у відношенні 2:1 за методом Фолча. Час екстрагування становив 12 год. Неліпідні домішки з екстракту видаляли після додаванням 1% розчину КСІ [2].

Рухомою фазою для розділення фракцій фосфоліпідів була суміш хлороформ-метанол-льодяна оцтова кислота-дистильована вода у співвідношенні 60:30:7:3 [2]. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти. Виявлено такі фракції: лізофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилетаноламін (ФЕА), фосфатидилхолін (ФХ), сфінгомієлін (СМ) та фосфатидилінозитол (ФІ).

Вміст фосфоліпідів визначали за кількістю неорганічного фосфору за методом Васьковського [14].

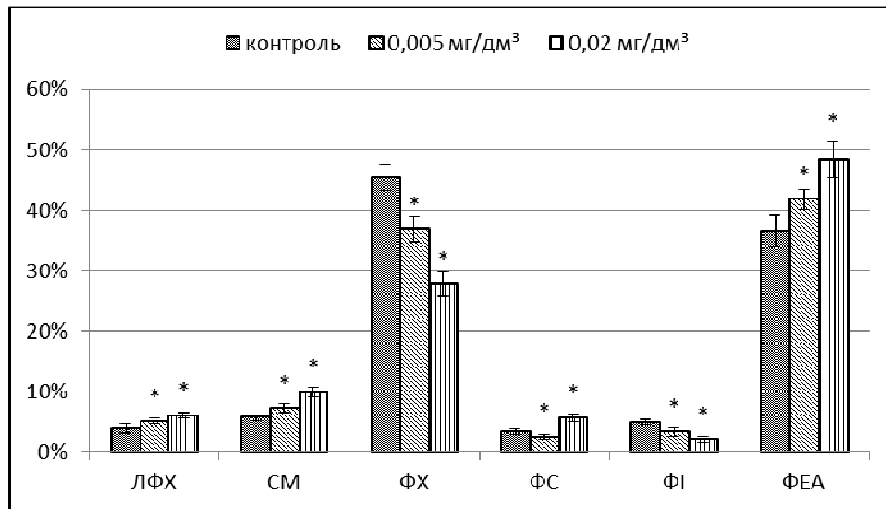
Всі одержані дані оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

Зміни вмісту фосфоліпідів у складі мітохондрій клітин печінки досліджуваних тканин риб за дії підвищених концентрацій йонів кадмію носять різнонапрямлений характер (рис. 1).

За експозиції допорогової концентрації металу у мітохондріях печінки щуки вміст ФХ вірогідно зріс у 1,18 раза, тоді як кількість ФЕА знизилася у 1,42 раза, що, ймовірно, є наслідком інтенсифікації синтезу холін-вмісного ліпиду за участю метилтрансфераз [7]. Опосередкованим підтвердженням активації синтезу фосфатидилхоліну в біліпідному шарі мітохондрій гепатоцитів риб є зниження вмісту лізофосфатидилхоліну у 1,59 раза ($p < 0,05$) [9].

короп



щука

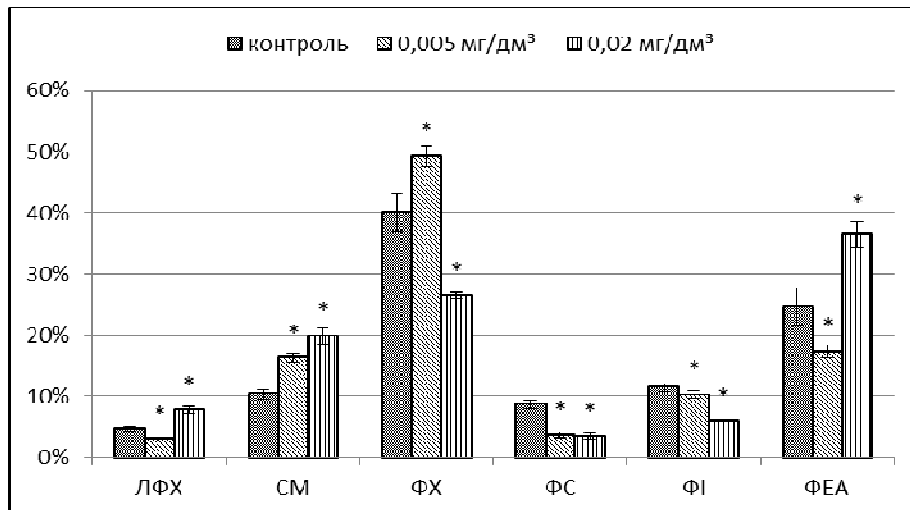


Рис. 1. Вміст індивідуальних фракцій фосфоліпідів в мітохондріях печінки риб за дії йонів кадмію ($M \pm m, n=5$)

Зменшення вмісту фосфатидилсерину у 2,36 раза ($p < 0,05$), ймовірно, спричинене активацією фосфатидилсериндекарбоксилази, що сприяє поповненню пулу фосфатидилетаноламіну.

За впливу обох досліджуваних концентрацій йонів Cd^{2+} у мітохондріях печінки коропа та у щуки, аклімованої до дії 0,02 мг/дм³ металу, відмічається вірогідне зниження вмісту ФХ, відповідно, у 1,63 і 1,51 раза. Одержані результати, ймовірно, викликані зростанням

ферментативної активності фосфоліпази A_2 [12], підтвердженням цього є накопичення лізофосфатидилхоліну. З іншого боку зниження вмісту фосфатидилхоліну може бути обумовлено інтенсифікацією його використання у синтезі сфінгомієліну [8], вміст якого зріс в коропа – у 1,72 раза, в щуки – у 1,91 раза.

Зростання вмісту ФЕА у печінці коропа та щуки, відповідно, у 1,33 та 1,48 раза ($p < 0,05$), ймовірно, є наслідком інгібування йонами Cd^{2+} перетворення ФЕА у ФХ шляхом його метилювання.

Зміни вмісту фосфатидилсерину є видоспецифічними. Так, вірогідне збільшення вмісту цього фосфоліпиду у 1,66 раза в печінці коропа за дії $0,02 \text{ мг/дм}^3$ металу, ймовірно, є результатом гальмування перетворення ФС \rightarrow ФЕА за участю фосфатидилсериндекарбоксилази. За впливу $0,005 \text{ мг/дм}^3$ кадмію в коропа та за дії $0,02 \text{ мг/дм}^3$ в щуки, спостерігаються зниження вмісту ФС, відповідно, у 1,34 і 2,51 раза, що, ймовірно, є результатом інтенсифікації декарбоксилювання цього фосфоліпиду.

Вірогідне зниження ФІ у досліджуваних тканинах риб, ймовірно, можна пояснити зростанням активності фосфоліпази A_2 [10] та фосфоліпази С [11].

Оцінку біологічних змін фосфоліпідного спектру здійснили на основі коефіцієнтів відношення вмісту фракцій цих ФЛ (рис. 2).

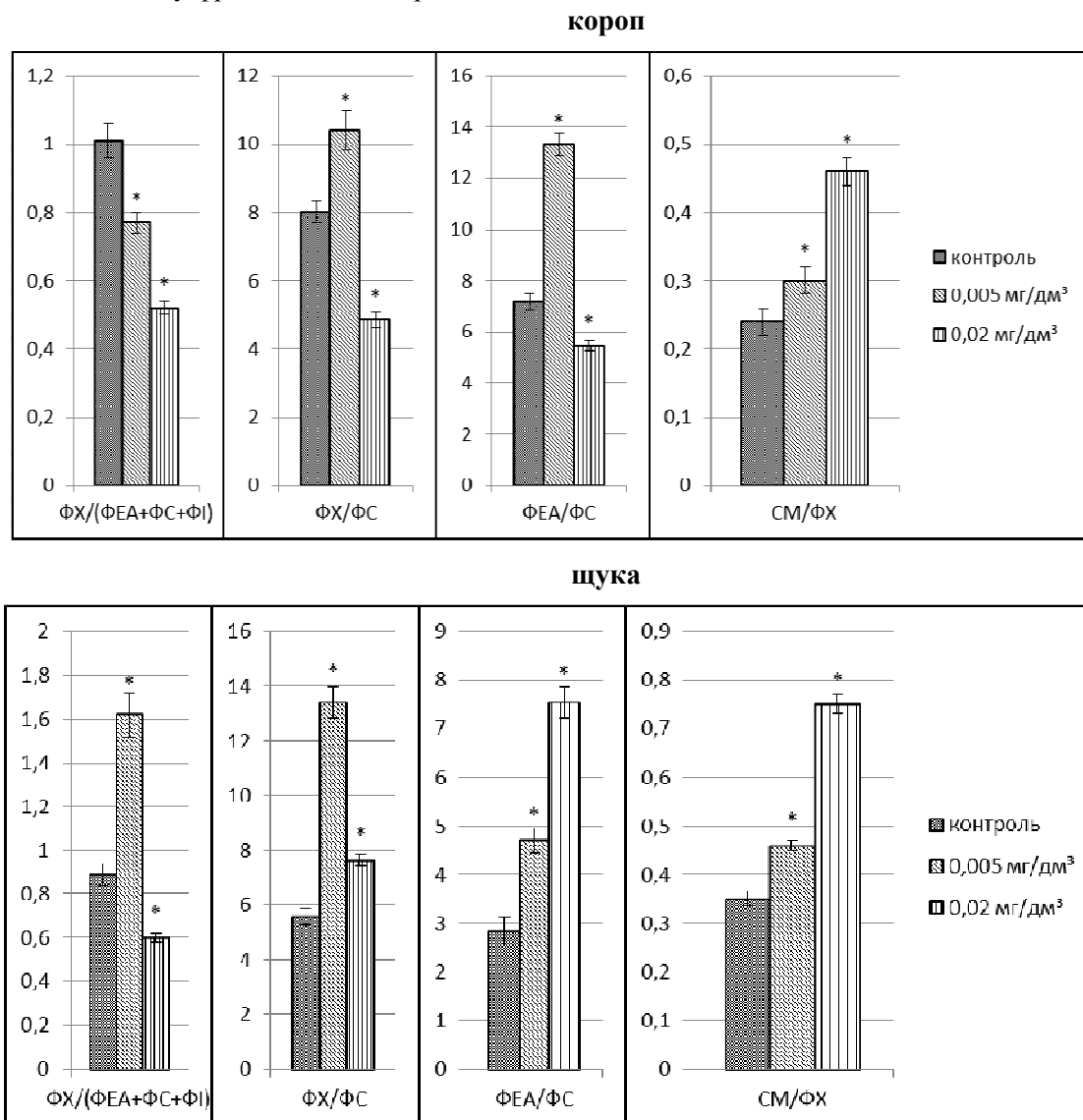


Рис. 2. Співвідношення досліджених фракцій фосфоліпідів в мітохондріях клітин печінки риб за дії йонів кадмію ($M \pm m$, $n=5$)

Зміни співвідношення досліджуваних фракцій фосфоліпідів у мітохондріях клітин печінки коропа та щуки носять концентраційно-залежний і видоспецифічний характер. Так, у клітинах печінки щуки за дії $0,005 \text{ мг/дм}^3$ іонів кадмію спостерігається вірогідне зростання співвідношення $[\text{ФХ}/(\text{ФЕА}+\text{ФС}+\text{ФІ})]$ у 1,82 раза. Такі зміни вказують на збільшення вмісту ліпідів зовнішнього шару мембрани, що сприяє зростанню регуляції мітохондріального метаболізму. Підтвердженням активації синтезу фосфатидилхоліну з його попередників є зростання показників співвідношення $\text{ФХ}/\text{ФС}$ і $\text{ФЕА}/\text{ФС}$, відповідно, у 2,91 і 1,85 раза.

За дії обох досліджуваних концентрацій кадмію у коропа та у щуки, аклімованих до впливу $0,02 \text{ мг/дм}^3 \text{ Cd}^{2+}$, відмічається подібна напрямленість змін досліджуваних показників. При цьому спостерігається зниження співвідношення $[\text{ФХ}/(\text{ФЕА}+\text{ФС}+\text{ФІ})]$, що обумовлено накопиченням фосфоліпідів внутрішнього шару мембран та гідролізом фосфотидилхоліну фосфоліпазою A_2 . Внаслідок таких змін фосфоліпідного профілю зростає мікрров'язкість біліпідного шару та знижується проникність для іонів кадмію.

Вірогідне збільшення показників співвідношень $\text{ФЕА}/\text{ФС}$ у мітохондріях печінки коропа за впливу $0,005 \text{ мг/дм}^3 \text{ Cd}^{2+}$ та у щуки за впливу $0,02 \text{ мг/дм}^3$ токсиканту обумовлене активацією перетворення фосфатидилсерину у фосфатидилетаноламін, внаслідок його декарбоксілювання, у той же час зростання показника $\text{ФХ}/\text{ФС}$ викликане значним зниженням концентрації ФС . У той же час за дії 2 ГДК металу у коропа спостерігаються вірогідне зниження співвідношення $\text{ФХ}/\text{ФС}$ і $\text{ФЕА}/\text{ФС}$, що свідчить про інгібування йонами Cd^{2+} фосфатидилсериндекарбоксілази [6].

Зростання співвідношення $\text{СМ}/\text{ФХ}$ за дії підвищених концентрацій токсиканту у мембранах мітохондрій обох досліджуваних тканин риб свідчить про інтенсифікацію синтезу СМ , ймовірно, внаслідок перетворення ФХ за участю церамідхолінфосфотрансферази [13].

Висновки

Виявлені зміни ліпідного складу мітохондрій печінки досліджуваних риб можна пояснити тим, що кадмій як типовий токсикант суттєво пригнічує метаболічні процеси в організмі гідробіонтів. Адаптивні зміни ліпідного складу органел спрямовані на мобілізацію пулу відповідних ліпідів з метою структурної перебудови ліпідного бішару для протидії прямому та опосередкованому впливу йону кадмію.

1. Васьковський В. Е. Липиды / В. Е. Васьковский // Соросовский образовательный журн. – 1997. – № 3. – С. 27–32.
2. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
3. Климов А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. Ч. 1. / А. Н. Климов. – С. Пб.: Питер, 1999. – С. 55–56.
4. Хочачка П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир, 1988. – 568 с.
5. Adiele R. C. Reciprocal enhancement of uptake and toxicity of cadmium and calcium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver mitochondria / R. C. Adiele, D. Stevens, C. Kamunde // Aquatic Toxicology. – 2010. – Vol. 96. – P. 319–327.
6. Kharbanda K. K. Role of transmethylation reactions in alcoholic liver disease / K. K. Kharbanda // World J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13, № 37. – P. 4947–4954.
7. Kodaki T. Phosphatidylethanolamine methylation pathway / T. Kodaki, S. Yamashita // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262. – P. 15428–15435.
8. Leslie J. M. Phospholipid composition of gold fish (*Carassius auratus* L.) liver and brain and temperature-dependence of phosphatidylcholine synthesis / J. M. Leslie, J. T. Buckley // Comp. Biochem. Physiol. – 2006. – Vol. 53B, № 3. – P. 335–337.
9. Lindahl M. Zinc (Zn^{2+}) binds to and stimulates the activity of group I but not group II phospholipase A_2 / M. Lindahl, Ch. Tagesson // Inflammation. – 1996. – Vol. 20. – P. 599–611.
10. Mahadevappa V. G. The molecular species composition of individual diacylphospholipids in human platelets / V. G. Mahadevappa, B. J. Holub // Biochim. Biophys. Acta. – 2002. – Vol. 713. – P. 73–79.
11. Panfoli I. Effects of heavy metals on phospholipase C in gill and digestive gland of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. / I. Panfoli, B. Burlando, A. Viarengo // Comparative Biochem. Physiol. – 2000. – Vol. 127, Part B. – P. 391–397.

12. *Sphingosine-1-phosphate* stimulates cell migration through a Gi-coupled cell surface receptor / F. Wang, J. R. Van Brocklyn, J. P. Hobson [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 35343–35350.
13. *The role of endogenous* phosphatidylcholine and ceramide in the biosynthesis of sphingomyelin in mouse fibroblasts / W. D. Marggraf, R. Zertani, F. A. Anderer [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1982. – Vol. 710. – P. 314–323.
14. *Vaskovsky V. E.* A universal reagent for phospholipids analysis / V. E. Vaskovsky, E. V. Kastetsky, I. M. Vasedin // *J. Chromatogr.* – 1985. – Vol. 114. – P. 129–141.

Ю.И. Сеньк, О.О. Рабченко, В.З. Курант

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Украина

ИЗМЕНЕНИЯ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КАРПА И ЩУКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИОНОВ КАДМИЯ

Исследовано влияние 0,005 и 0,02 мг/дм³ ионов кадмия на липидный состав митохондрий клеток печени карпа (*Cyprinus carpio* L.) и щуки (*Esox lucius* L.). Установлено, что действие повышенных концентраций металла вызывает структурно-функциональные изменения фосфолипидного состава митохондрий исследуемых рыб, которые направлены на противодействие прямого и косвенного влияния ионов Cd²⁺.

Ключевые слова: карп, щука, митохондрии печени, фосфолипиды, кадмий

Yu.I. Senyk, O.O. Rabchenyuk, V.Z. Kurant

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

CHANGES OF PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF LIVER CELL MITOCHONDRIA IN CARP AND PIKE UNDER THE ACTION OF CADMIUM IONS

The influence 0.005 mg/dm³ and 0.02 mg/dm³ Cd²⁺ ions on the lipid composition of the mitochondria of cells liver of (*Cyprinus carpio* L.) and pike (*Esox lucius* L.). Found that the effect of elevated concentrations of metals causes structural and functional changes in mitochondrial phospholipid composition of the studied fish.

Keywords: carp, pike, mitochondria, liver, phospholipid, cadmium

УДК 574.52

Г.В. ТЕРЕНЬКО

Украинский научный центр экологии моря

Французский бульвар, 89, Одесса, 65009, Украина

Посвящается светлой памяти Теренько Людмилы Михайловны

ЗИМНИЙ ФИТОПЛАНКТОН ОДЕССКОГО ЗАЛИВА ЧЕРНОГО МОРЯ

В работе изложены результаты пятилетнего исследования зимнего фитопланктона. В альгоценозе залива в 2011-2015 гг. выявлено 168 видов и разновидностей микроводорослей. Зимой отмечено доминирование морских форм (59%), высокой доли пресноводных (27%), пресноводно-солонатоводных – 12% и солонатоводных – 2%. Большинство видов были планктонными (86%), бентосные формы составили 14%. Показана связь фитопланктона с гидролого-гидрохимическим режимом. Отмечена «важная» роль зимних «цветений» микроводорослей в формировании кислородного режима водоёма.

Ключевые слова: зимний фитопланктон, численность, биомасса, «цветение» воды, Одесский залив

В сезонном ходе развития фитопланктона северо-западной части Черного моря наблюдается два основных максимума количественных показателей – зимний и летний. Зимний пик