

O.M. Klimnyuk, I. V. Grib

Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

RECURRENCE PHENOMENON KILL OF FISH IN STREAMSIDE LAKES OF WESTERN POLES'YE AS FACTOR NATURAL SELECTION OF ABORIGINAL FISHES

The research data of fishes composition and fish kill in floodplain lakes of West Polissya are presented.

Key words: West Poles'sya lakes, kill, aboriginal fishes, recurrence of natural processes

УДК 581.1:(577.127+577.128)

П.Д. КЛОЧЕНКО¹, В.О. МЕДВЕДЬ¹, А.В. КАЛИНОВСЬКА¹, Ю.В. СИНЮК²,
О.В. ВАСИЛЕНКО²

¹Інститут гідробіології НАН України

пр-т Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210

²Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль 46027, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА АЗОТНОГО ОБМІНУ У ПРИСНОВОДНИХ ВОДОРОСТЕЙ ЗА ДІЇ УФ-ВИПРОМІНЮВАННЯ

Досліджено вплив УФ-випромінювання на функціонування ключових ферментів енергетичного та азотного обміну у зелених і синьозелених водоростей. Виявлено ряд видоспецифічних реакцій, пов'язаних з адаптаційними перебудовами в клітинах водоростей за дії досліджуваного стресового фактору.

Ключові слова: водорості, УФ-випромінювання, сукцинатдегідрогеназа, АТФ-аза, каталаза, глутаматдегідрогеназа, нітратредуктаза

Відомо, що функціонування як вищих, так і нижчих рослин відбувається в умовах впливу різноманітних факторів, серед яких сонячне випромінювання є одним з найважливіших, що суттєво впливає на життєдіяльність основних мешканців водних екосистем – водорості [3]. Нині, коли антропогенний вплив на гідросферу набув глобальних масштабів, значний інтерес становить такий стресовий абіотичний фактор як УФ-радіація, оскільки промислові викиди в атмосферу призводять до зменшення озонового шару – природного фільтра, який затримує УФ-промені. За даними деяких дослідників [2], на поверхню води попадає від 30% до 60% загальної кількості УФ-світла, яке проникає на глибину до 5 м. Це, звичайно, не може не позначитись на життєдіяльності гідробіонтів в цілому, і водоростей, зокрема.

Метою роботи було з'ясування особливостей реакцій енергетичного та азотного метаболізму прісноводних водоростей на дію УФ-випромінювання в лабораторних умовах.

Матеріал і методи досліджень

Опромінення культур синьозелених (*Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP-1, *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (Ag.) Kondrat. HPDP-18) і зелених (*Desmodesmus brasiliensis* (Bohl.) Hegew. IBASU-A 273, *Scenedesmus obtusus* (W. et G.S. West) Tzar. IBASU-A 297) водоростей УФ-світлом здійснювали у режимі 5 та 10 хв. Джерелом ультрафіолетового випромінювання слугувала ртутна лампа з повним УФ-спектром. Загальну АТФ-азну активність у клітинах водоростей визначали відповідно до методики [9], активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) – згідно з [4], каталази – згідно методу [7], глутаматдегідрогенази (ГДГ) – згідно [8], нітратредуктази (НР) – з урахуванням методичних вказівок [5]. Вміст білків визначали за Лоурі [10].

Результати досліджень та їх обговорення

Ефективність функціонування метаболічних систем в організмі гідробіонтів є одним з найпоказовіших критеріїв успішності формування стратегій за дії стрес-факторів. Фізіолого-біохімічні дослідження продемонстрували, що до основних реакцій-відповідей на стрес належать зміни активності ферментів, а також зміни в білоксинтезуючій системі.

Враховуючи велику кількість ферментів, що відповідають за генерацію енергії у клітині, звертаємо увагу на сукцинатдегідрогеназу – ключовий фермент циклу трикарбонових кислот

(ЦТК), який каталізує окиснення бурштинової кислоти (сукцинату) до фумарової кислоти. СДГ є ключовим ферментом ЦТК і обумовлює функціонування багатьох інших реакцій.

Лабораторні дослідження з використанням як тест-об'єктів водоростей різних систематичних груп допомагають виявити та порівняти найбільш чутливі ланки метаболічних процесів в рослинному організмі. Ці передумови стали основою наших експериментів.

Як видно з даних, що відображені на рис. 1, опромінення клітин водоростей УФ-світлом супроводжувалося помітним зменшенням активності сукцинатдегідрогенази. Особливо це виражено у представників зелених водоростей. Зокрема, збільшення тривалості дії досліджуваного стресового фактору до 10 хв. призводило до зниження активності СДГ *D. brasiliensis* на 99,1% порівняно з контролем. Одночасно, активність СДГ у синьозелених водоростей зменшувалася на 21,5% і 82,5%, відповідно, для *A. cylindrica* і *Ph. autumnale f. uncinata*.

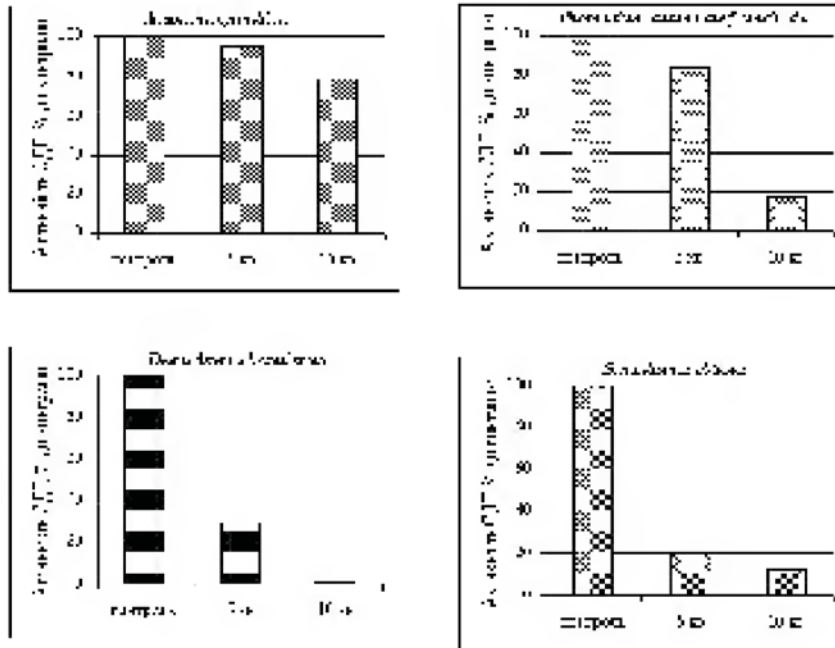


Рис. 1. Активність сукцинатдегідрогенази синьозелених і зелених водоростей за дії УФ випромінювання

Відомо, що одну з найважливіших функцій у регуляції біохімічних процесів в клітині відіграють АТФ-азні системи, діяльність яких пов'язана з їх участю в транспортуванні іонів крізь біологічні мембрани з використанням енергії АТФ. Отже, діяльність зазначеного ферменту тісно пов'язана з енергетичним обміном клітин, і функціонуванням, насамперед, сукцинатдегідрогенази. Як видно з даних, поданих на рис. 2, пригнічення діяльності останньої за дії УФ-випромінювання в зелених водоростей відбулося зниженням активності загальної АТФ-ази. Так, у *D. brasiliensis* за впливу УФ-світла протягом 10 хв активність зазначеного ферменту зменшилася порівняно з контролем на 85,3%, а у *S. obtusus* – на 57,5%. При цьому у досліджуваних представників синьозелених водоростей іонний обмін з витратами АТФ продовжувався активно функціонувати навіть за збільшення тривалості дії стресового фактору. Зокрема, при режимі його впливу протягом 10 хв активність загальної АТФ-ази зростала порівняно з контролем на 158% у *A. cylindrica* і на 113% у *Ph. autumnale f. uncinata*.

З функціонуванням процесів дихання, що супроводжується генеруванням енергії у вигляді АТФ та формуванням його різноманітних продуктів у рослинному організмі, тісно пов'язана діяльність ферменту каталази. Його функція – розкладання шкідливого для клітини пероксиду водню, що утворюється під час дихання [6]. Наші дослідження засвідчили, що з збільшенням режиму опромінення культур УФ-світлом відмічається поступове збільшення активності цього ферменту. Так, у синьозелених водоростей *A. cylindrica* і *Ph. autumnale f. uncinata* вона зростає порівняно з контролем вже при 5 хв. дії УФ-радіації на 124% і 100% відповідно (рис. 3). Щодо представників зелених водоростей, то спостерігалася дещо інша картина: у *D. brasiliensis* відбувалося зниження активності каталази як при 5 хв, так і при 10 хв. дії стресового фактора

(відповідно на 11,9% і 32,2% порівняно з контрольним варіантом). Подібна тенденція відмічена і для *S. obtusus*. Це свідчить, про меншу стійкість зелених водоростей до дії УФ-випромінювання.

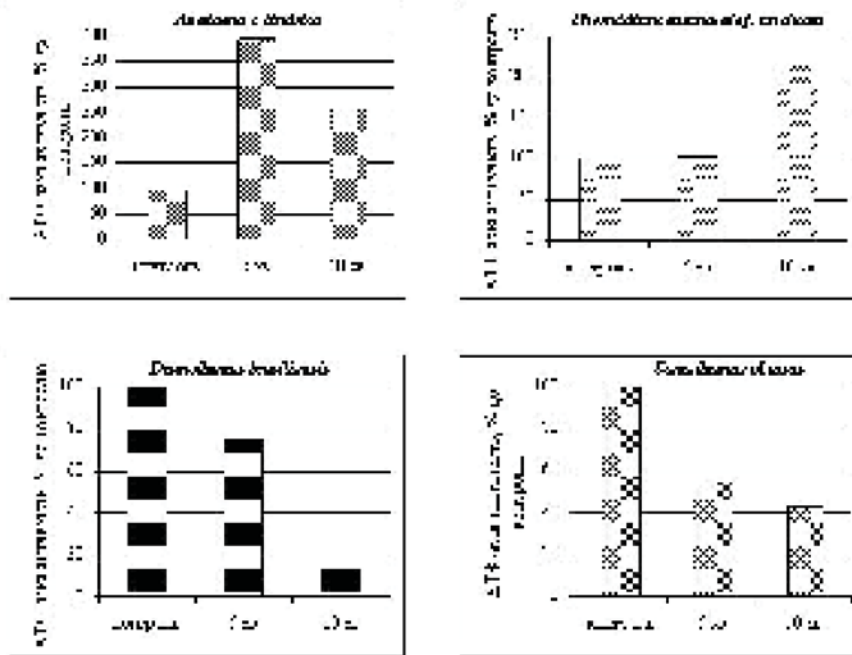


Рис. 2. Загальна АТФ-азна активність синьозелених і зелених водоростей за дії УФ випромінювання

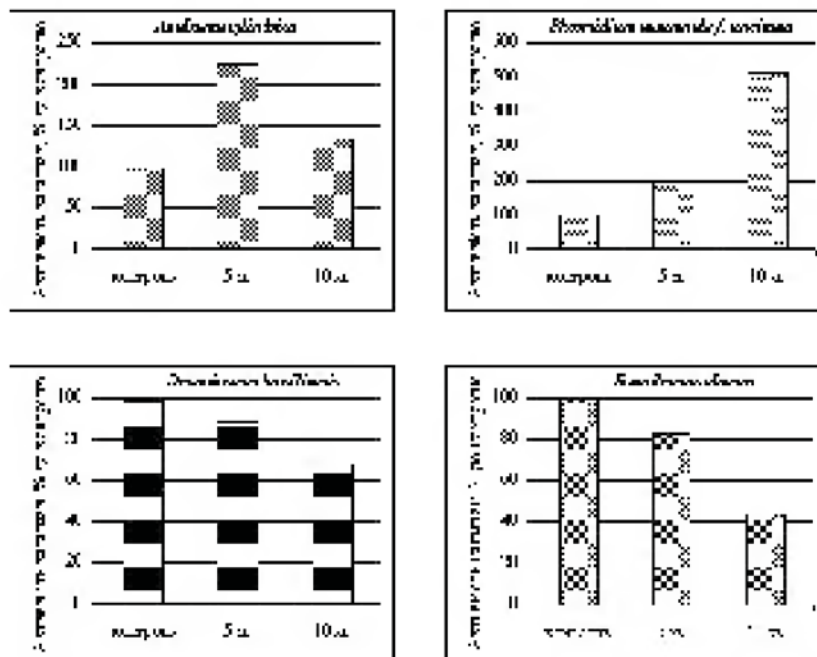


Рис. 3. Активність каталази синьозелених і зелених водоростей за дії УФ випромінювання

Загальновідомо, що серед найважливіших складових метаболізму клітин є біосинтез білків. Однією з його ключових ланок є зв'язування амонійного азоту з α -кетоглутаровою кислотою з утворенням глутамінової кислоти. Цю реакцію каталізує глутаматдегідрогеназа (ГДГ). Дослідивши функціонування ферменту за дії УФ-радіації зазначаємо, що у синьозеленої водорості *A. cylindrica*

його активність помітно зростала порівняно з контролем: при 5 хв. – на 16%, а при 10 хв – на 89%, а у *Ph. autumnale* f. *uncinata* спостерігалася зворотня тенденція (рис. 4). Щодо представників зелених водоростей *D. brasiliensis* і *S. obtusus*, то в обох випадках дія УФ-випромінювання на їх клітини супроводжувалася інгібуванням ГДГ. Зокрема, у *Scenedesmus obtusus* при 10 хв. впливі УФ-світла активність ферменту зменшилася порівняно з контрольним варіантом на 94%.

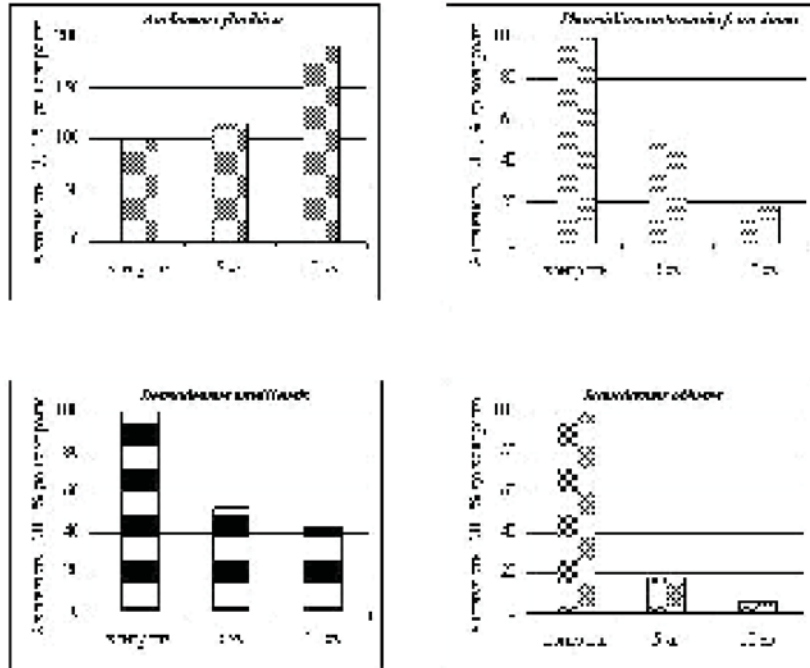


Рис. 4. Активність глутаматдегідрогенази синьозелених і зелених водоростей за дії УФ випромінювання

Належної уваги заслуговує також функціонування такого важливого ферменту азотного обміну як нітратредуктаза (НР), яка бере участь у засвоєнні рослинами нітратів. Як видно з даних рис. 5, активність НР досліджуваних синьозелених водоростей була найвищою при 10 хв. опромінення клітин УФ-світлом. Зокрема, у *A. cylindrica* вона зростає порівняно з контролем на 51,2%, а для *Ph. autumnale* f. *uncinata* – на 907,7%. Щодо реакції НР зелених водоростей, то слід відмітити таке: спочатку (5 хв.) у *D. brasiliensis* спостерігалася невелике зростання активності ферменту, а потім (10 хв.) – зниження. Одночасно у *S. obtusus* ми реєстрували досить помітне зниження активності НР (на 79,4% порівняно з контролем) при обох режимах опромінення культур.

Аналізуючи отримані результати щодо діяльності ферментів азотного обміну, слід відзначити, що зростання їх активності під впливом УФ-радіації, можливо, пов'язане з синтезом в рослинній клітині специфічних стресових білків, які утворюються за дії різних факторів, зокрема, УФ-випромінювання [1].

Ми схилиємося до думки, що за тривалого впливу стрес-фактору в клітинах рослин вмикаються механізми, що спрямовані на відновлення вихідного метаболічного стану або перемикання його на альтернативні шляхи функціонування. УФ-радіація, гальмуючи активність ЦТК і збіднюючи клітини енергетично, сприяє перемиканню на резервні шляхи генерування енергії, насамперед, за рахунок резервних амінокислот і білків. За рахунок активного функціонування системи оборотної ГДГ у клітинах водоростей може здійснюватися первинна детоксикація надлишкового аміаку, який інтенсивно утворюється за стресового впливу, а також забезпечуватися необхідним субстратом ферментна система синтезу амідів. Крім того, ГДГ відіграє певну роль у підтриманні гомеостазу метаболітів та регуляції швидкості аеробної системи окислення у ЦТК, де важливе місце займає α -кетоглутарова кислота, яка є субстратом цієї реакції. Зазначений процес, очевидно, має місце у синьозелених водоростей, в яких з ним може бути пов'язано зростання або підтримання на адаптивному рівні активностей: АТФ-аз, що забезпечують енергією АТФ-залежну ГДГ; каталази, яка не тільки руйнує утворений в процесі альтернативного енергозабезпечення токсичний пероксид водню, а й сприяє перебігу пероксидативного механізму регуляції активності білків і ліпідів; нітратредуктази, яка постачає азот для синтезу у подальшому амінокислот глутамінсинтезним шляхом, а потім і

необхідних клітині адаптивних білків. Можна стверджувати, що у синьозелених водоростей за дії УФ-радіації, насамперед впродовж 5 хв., формується певна субстрат-метаболична адаптивна система, яка тільки в окремих випадках функціонує при 10 хв. опроміненні клітин УФ-світлом. Щодо зелених водоростей, то для них інгібуючий вплив УФ-променів виявляється вже протягом 5 хв їх дії.

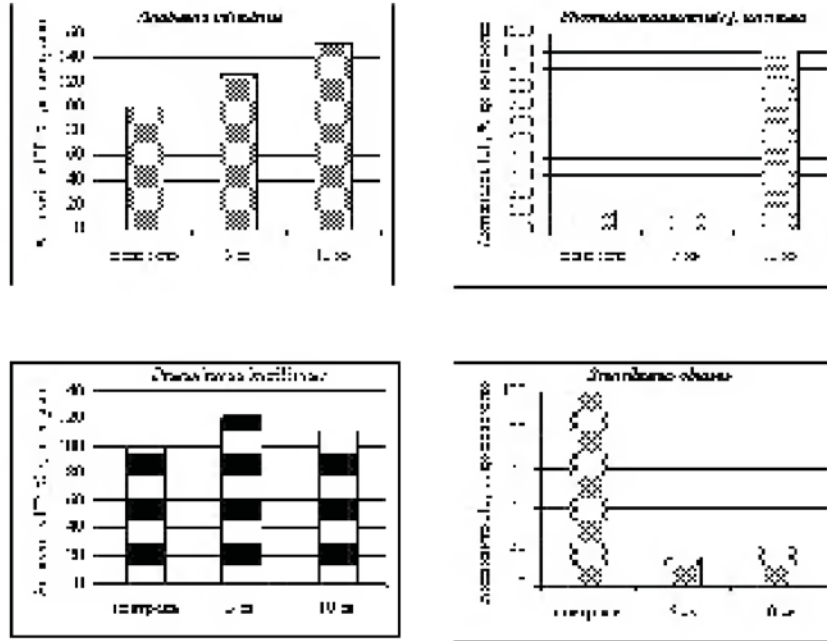


Рис. 5. Активність нітратредуктази синьозелених і зелених водоростей за дії УФ випромінювання

Висновки

Наведені дані свідчать про те, що рівень енергетичного та азотного обміну в прісноводних водоростей за дії УФ-випромінювання є видоспецифічним і пов'язаний з адаптаційними перебудовами метаболізму, які супроводжуються змінами у функціонуванні основних метаболічних систем та активацією компенсаторних механізмів, спрямованих на зменшення несприятливого впливу УФ-радіації. Досліджені представники Cyanophyta виявились більш стійкими до впливу УФ-світла, ніж зелені водорості.

1. Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів / І.В. Косаківська. – К.: Сталь, 2003. – 191 с.
2. Макаров М.В. Влияние ультрафиолета на рост массовых видов водорослей Баренцева моря / М.В. Макаров // Эколого-физиологические исследования водорослей и их значение для оценки природных вод. – Ярославль: Изд-во РАН, 1996. – С. 150–152.
3. Масюк Н.П. Фотодвижение клеток *Dunaliella* Teod. (*Dunaliellales*, *Chlorophyta*, *Viridiplanae*) / Н.П. Масюк, Ю.И. Посудин, Г.Г. Лилицкая. – К., 2007. – 265 с.
4. Методи біохімічних досліджень / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: ЛГУ, 1982. – 273 с.
5. Методи біохімічних досліджень рослин / Под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
6. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: Підручник / М.М. Мусієнко. – К.: Либідь, 2005. – 808 с.
7. Починок Х.Н. Методи біохімічного аналізу рослин / Х.Н. Починок. – К.: Наук. думка, 1976. – С. 172–174.
8. Софьин А.В. Глутаматдегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли. Кинетические свойства / А.В. Софьин, В.Р. Шатилов, В.Л. Кретович // Биохимия. – 1984. – Т.49, № 2. – С. 334–345.
9. Dang Z. Na^+/K^+ ATP-ase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper / Z. Dang, R.A.C. Lock, G. Filk // J. Exp. Biol. – 2000. – Vol. 203. – P. 379–387.
10. Lowry O. H. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosenberg, A.L. Farr, R.I. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.

П.Д. Клоченко¹, І.О. Медведь¹, А.В. Калиновская¹, Ю.В. Синюк², О.В. Василенко²

¹Інститут гідробіології НАН України, Київ

²Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, Україна

ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И АЗОТИСТОГО ОБМЕНА У ПРСНОВОДНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИЯ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ

Изучено влияние УФ-излучения на функционирование ключевых ферментов энергетического и азотного обмена у зеленых и синезеленых водорослей. Обнаружено ряд видоспецифических реакций, связанных с адаптационными перестройками в клетках водорослей при действии исследуемого стрессового фактора.

Ключевые слова: водоросли, УФ-облучение, сукцинатдегидрогеназа, АТФ-аза, каталаза, глутаматдегидрогеназа, нитратредуктаза

P.D. Klochenko¹, I.O. of Medved¹, A.V. Kalinovska¹, Yu.V. Sinyuk², O.V. Vasilenko²

¹ Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

² Ternopil National Volodymir Hnatiuk Pedagogical University, Ukraine

FEATURES OF POWER AND NITRIC METABOLISM AT ALGAE AT ACTIONS OF UF-RADIATION

Influence UV-radiation on functioning of key enzymes of a energy and nitrogen exchange at Chlorophyta and Cyanophyta is investigated. It is revealed a number of a type of specific reactions connected with adaptable restructurings in cells of algae at action of the investigated stressful factor.

Key words: algae, UF-radiation, succinate dehydrogenase, ATP-ase, catalase, glutamate dehydrogenase, nitratereductase

УДК [577.1: 574.64]

В.О. КОВАЛЬ, Б.В. ЯКОВЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г.Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14038, Україна

ВПЛИВ КАТІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ, ФЕНОЛУ І АМІАКУ НА АКТИВНІСТЬ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГІДРОГЕНАЗИ В ПЕЧІНЦІ І М'ЯЗАХ КОРОПА В УМОВАХ ЗИМІВЛІ

Зміни активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в організмі коропа залежать від природи токсичної речовини: поллютанти неорганічної природи (аміак і іони важких металів) збільшують активність цього ферменту, а фенол пригнічує її. В середині зимівлі відповідь організму (зміна активності ферменту) на дію токсичних речовин найменша, оскільки зниження температури води маскує токсичний ефект.

Ключові слова: важкі метали, фенол, аміак, короп, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

На якісні зміни у складі водного середовища риби реагують залежно від систематичного положення, філогенетичного рівня, віку, статі, функціонального стану, вмісту кисню у воді, температури та багатьох інших факторів. Реакція гідробіонтів на вплив токсичних речовин виявляється на генному, хромосомному, клітинному, тканинному, організмовому та надорганізмовому рівнях. Основні дослідження з впливу токсичних речовин на організм риб спрямовані на вивчення накопичення токсичних речовин в тканинах і органах [4, 12] та виявлення морфологічних [6, 9] і біохімічних [1–3] змін за їх дії. Морфологічні спостереження найчастіше проводили на зябрах, оскільки вони безпосередньо контактують з токсичними речовинами [13], або на органах, що нейтралізують токсиканти – печінка, нирки [9]. Як біохімічні об'єкти найчастіше використовували кров [5] та печінку [1, 3, 8] риб. В них досліджували як активність ферментів (лужної фосфатази, ліпаз, глутамінсинтетази, аспартатамінотрансферази), так і вміст метаболітів (лактату, пірувату, АТФ, АДФ, амінокислот).