

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 ГДКр 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  $Cd^{2+}$ .

*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  $O_2$  –  $7,5 \pm 0,5$  мг/дм<sup>3</sup>;  $CO_2$  –  $2,5 \pm 0,3$  мг/дм<sup>3</sup>; рН –  $7,8 \pm 0,1$ . У кожному акваріумі утримувалось по 5 особин. Риб під час експерименту не годували.

Досліджували вплив  $0,005$  мг/дм<sup>3</sup> і  $0,02$  мг/дм<sup>3</sup> йонів  $Cd^{2+}$ , що становить, відповідно, 0,5 та 2 рибогосподарські граничнодопустимі концентрації (допорогова і сублетальна). Період акліматії 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  $+4^\circ C$ , 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 KCl [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), сфінгомелін (СМ) та фосфатидилінозитол (ФІ).

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

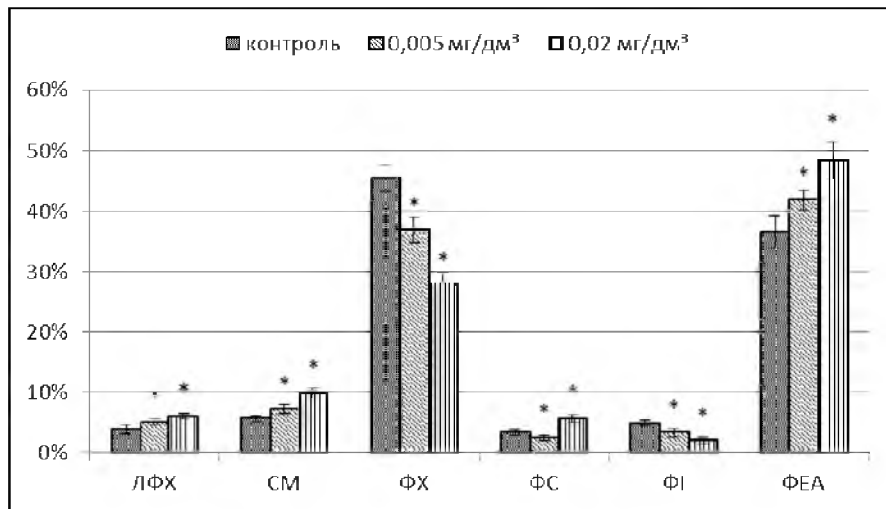
Всі одержані дані оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

**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**

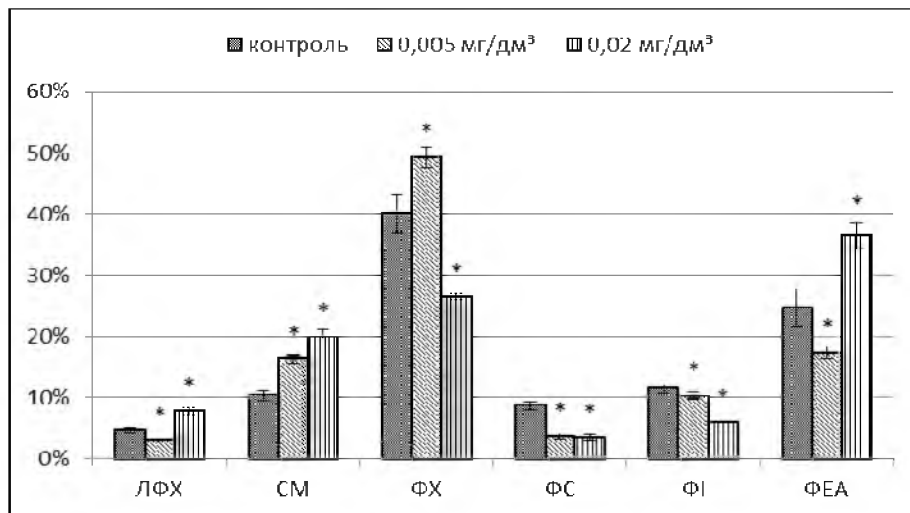


Рис. 1. Вміст індивідуальних фракцій фосфоліпідів в мітохондріях печінки риб за дії йонів кадмію ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

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).

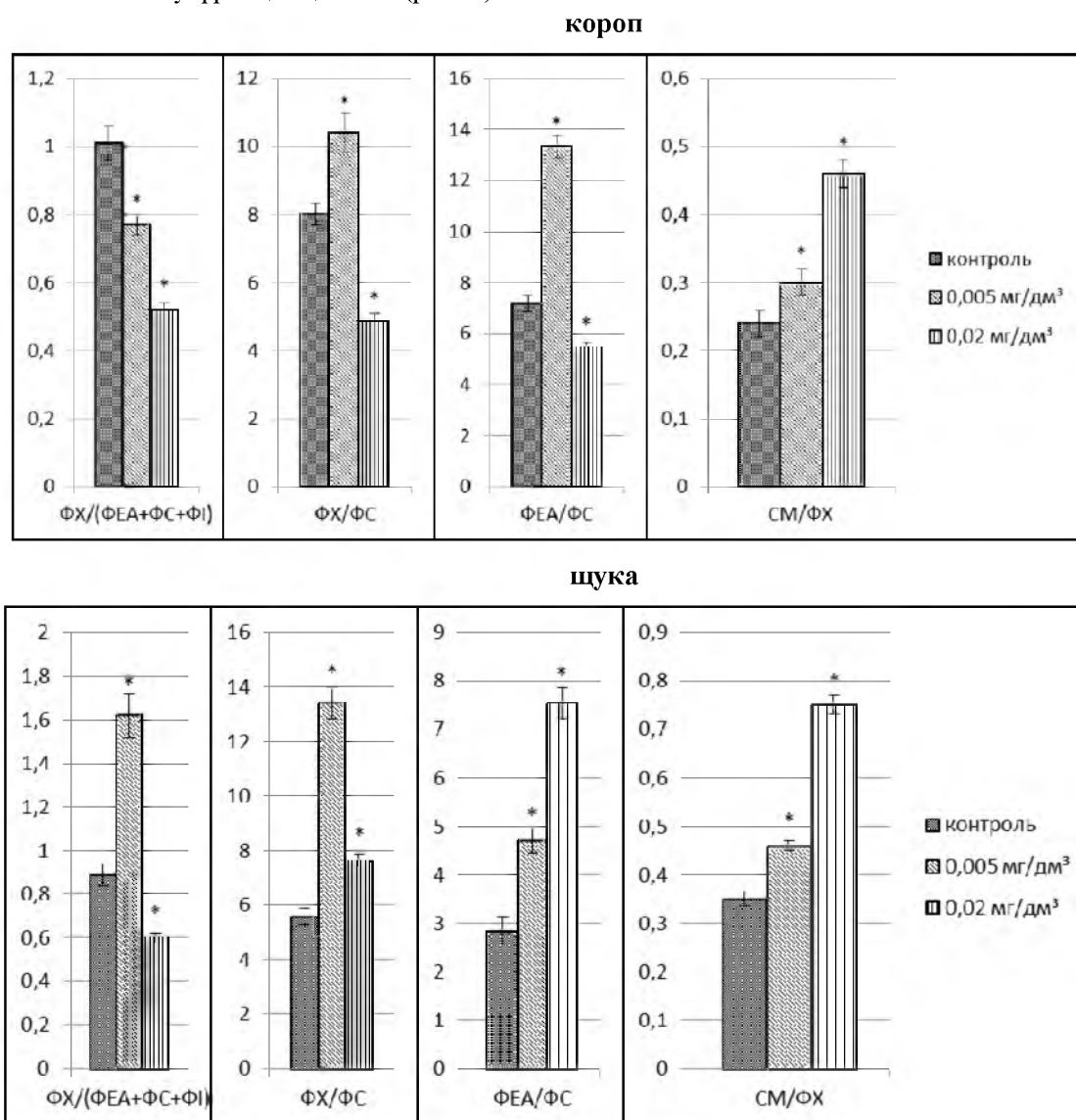


Рис. 2. Співвідношення досліджених фракцій фосфоліпідів в мітохондріях клітин печінки риб за дії йонів кадмію ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

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  $0,005 \text{ мг/дм}^3$  йонів 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 йонів 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  $\text{ФС}$ . 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  $\text{Cd}^{2+}$  фосфатидилсериндекарбоксілази [6].

Зростання співвідношення  $\text{СМ}/\text{ФХ}$  за дії підвищених концентрацій токсиканту у мембранах мітохондрій обох досліджуваних тканин риб свідчить про інтенсифікацію синтезу  $\text{СМ}$ , ймовірно, внаслідок перетворення  $\text{ФХ}$  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 phosphatidyletholine synthesis / J. M. Leslie, J. T. Buckley // Comp. Biochem. Physiol. – 2006. – Vol. 53B, № 3. – P. 335–337.
9. *Lindahl M.* Zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ) 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/дм<sup>3</sup> 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 Cd<sup>2+</sup>.

*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/dm<sup>3</sup> and 0.02 mg/dm<sup>3</sup> Cd<sup>2+</sup> 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