

*Заморов В. В., Рижко І.Л., Друзенко О. В.*

**БІОХІМІЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ БИЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBIVUS*  
*MELANOSTOMUS* (PALLAS) В ОДЕСЬКІЙ ЗАТОЦІ**

*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, м. Одеса, Україна,  
[kira\\_ril@rnail.ru](mailto:kira_ril@rnail.ru)*

Бичок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas), який зустрічається як у Чорному морі, так і в прісних водоймах Північно-Західного Причорномор'я, привертає до себе особливу увагу. Його існування у різноманітних умовах середовища дозволяє вивчати адаптаційні реакції даного виду на різні екологічні фактори. В акваторії Одеської затоки кругляк відіграє важливу роль в донних біоценозах, а також має значення в прибережному рибальстві. Внутрішньовидова структура бичка-кругляка в північно-західній частині Чорного моря залишається не дослідженою.

Виявлення за допомогою електрофоретичних методів дослідження у риб генетично детермінованих варіантів різних білкових (у тому числі ферментних) систем відкриває можливість нових підходів до вирішення таких питань популяційної біології, як структура, динаміка, стійкість популяцій у часі тощо. Естерази в якості маркерів відзначаються простотою гістохімічного виявлення, добре відображають ступінь внутрішньовидової мінливості і надають можливість одномоментно вивчати експресію декількох генів, контролюючих синтез їх ізоформ (Алферова, Нефедов, 1973; Афанасьєв, Беккер, Фетисов, 1989; Заморов, Рижко, Друзенко, 2010).

Метою даної роботи було вивчення органо-тканинного поліморфізму та експресії естераз у бичка-кругляка Одеської затоки в різні роки досліджень.

Матеріалом для дослідження електрофоретичних спектрів тканинних естераз були самці та самки бичка-кругляка. Рибу виловлювали в

Одеській затоці в районі Малого Фонтана в літньо-осінній періоді 2008- 2010 років (загалом 450 екземплярів). Всі особини були одного віку та однієї розмірно-масової категорії. Рибу заморозували і зберігали до моменту проведення аналізу при температурі  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . У даному дослідженні для розділення білків кислої природи застосовували варіант лужного електрофорезу у системі трис-гліцинового буферу (рН 8,3) за системою Davis (1964). Розділяюча фаза носія являла собою пластинчастий блок з концентрацією поліакриламідного гелю 7 %. Для виявлення молекулярних форм естераз використовували модифіковану методику (Корочкин, 1977). Про місце знаходження ферменту в гелі судили за результатами проведення в м'яких умовах (рН 7,4) реакції одночасного азосполучення (Берстон, 1965). Гелеві блоки сканували та аналізували за допомогою комп'ютерної денситометрії. Кількісну оцінку електрофореграм проводили, використовуючи спеціальну комп'ютерну програму «АнаИС». Про експресію виявлених естераз судили за показниками оптичної щільності (ADo, відносні одиниці) відповідних ферментотримуючих зон гелевого блоку (Заморов, Рижко, Друзенко, 2010). Отримані первинні дані, що відображають рівень активності досліджуваних ферментів, статистично опрацьовували (Рокицкий, 1973; Атраментова, Утєвська, 2007).

Всі виявлені на електрофореграмах ізоформи естераз за їх електрофоретичною рухливістю можна розділити на чотири групи. Перша група є найбільш електрофоретично рухливою ( $R_f$  від 0,500 до 0,550) і одночасно має досить невелику експресивність. Друга і третя групи у більшості органів бичків представлені двома фракціями: однією більш рухливою (F) і другою менш рухливою (S). Четверту групу складають ізоформи, які мають нафтилацетазну і ліпазну активність. Це група найменш рухливих форм естераз ( $R_f$  від 0,095 до 0,110), вони мають велику молекулярну масу (Заморов, Рижко, Друзенко, 2010) і слабо експресуються. Інші групи естераз ліпазної активності не проявляють.

Незважаючи на досить високу подібність в експресії виявлених естераз у бичка-кругляка, все ж таки вдалося виявити розходження в експресивності деяких форм. Так, у самців кругляка в переважній більшості органів спостерігається більш висока активність ферментів та більша кількість форм, ніж у самок.

Порівняння спектрів естераз бичка-кругляка акваторії Одеської затоки вказує на відмінності кількості молекулярних форм та їх активності У окремих екземплярів риб в різні роки лову і сезони одного року. В 2008 та 2009 роках кількість смуг на електрофореграмах бичків дорівнювала 6, у 2010 році - 7. У риб, яких виловили у 2008-2009 роках, була відсутня швидкорухлива форма естерази 1.

Для особин, виловлених у 2009 році, спостерігали більш низьку експресивність естераз у порівнянні з аналогічною у риб, виловлених в 2008 і 2010 році. Але, як і для інших років дослідження, була відзначена різниця між експресивністю окремих форм естераз самців та самок бичка- кругляка: для самок притаманна більш низька активність ферментів.

Електрофоретичний спектр естераз у риб, виловлених в 2010 році, був різноманітнішим у порівнянні з 2008 роком. Він складався з більшої кількості форм, які відрізнялися також інтенсивністю експресії. Експресивність естераз у цьому році, як і в 2008, була мінімальною у високорухливих форм ферментів (естераза 1<sub>s</sub>). Слід також зазначити, що величини експресивності всіх форм естераз у 2010 р. достовірно відрізнялися від експресивності відповідних форм ферментів риб, що були виловлені у 2009 р.

У риб, досліджуваних в 2008 та 2009 рр. локуси естерази 1 виявлялися мономорфними. На відміну від цього, серед бичків 2010 р. вилову, крім гомозиготних генотипів, зустрічалися особини із обома формами (F і S) цих ферментів, тобто гетерозиготи.

Бички, які виловлені в різні роки, відрізнялися також частотою зустрічальності окремих форм естераз. У 2008 та 2009 році на електрофореграмах виявлено тільки по одному алейному варіанту генів двох локусів, а саме малорухливі форми (S) естераз 1 і 4, швидкорухливі форми (F) зазначених ферментів були відсутні. Таким чином, у риб 2008 р. вибірки відповідні два локуси виявлялися мономорфними. На відміну від цього, серед бичків 2010 р. вилову, крім гомозиготних генотипів, зустрічалися особини із обома формами (F і S) ферменту 1, тобто гетерозиготи. Розраховані по Харді-Вайнбергу частоти зустрічальності алейних генів F і S для естерази 1 склали 0,48 і 0,52 відповідно.

Порівняння спектрів естераз бичка-кругляка акваторії Одеської затоки вказує на відмінності кількості молекулярних форм та їх активності у окремих екземплярів риб не тільки в різні роки лову, але і в різні сезони одного і того ж року. У 2008 р. кількість смуг на електрофореграмах варіювала від 4 весною та влітку до 6 восени. У риб, яких виловили у весняно-літній період були відсутні швидкорухливі форми естераз 2 і 3. Восени в тканинах зябер виловлених бичків спостерігали більшу експресивність ізоформ естераз, ніж навесні. Так, активність повільної форми 4<sub>s</sub> влітку збільшилася на 40 % порівняно з весною. Подібну тенденцію зміни активності естераз залежно від сезону відзначали і в інші роки досліджень.

Поліморфізм ізоформ естераз (різна кількість фракцій, неоднакова експресивність їх на електрофореграмах) та відмінності частот зустрі-

чальності виявлених електрофоретично фенотипів дають можливість припустити, що в прибережних водах Одеської затоки мешкають генетично гетерогенні угруповання бичка-кругляка, представники яких домінували у вибірках різних років, що досліджувались. Отримані дані, які відображають індивідуальні якісні та кількісні особливості ізоформестеразної системи, можуть бути показником біохімічного поліморфізму і генетичної гетерогенності досліджуваних угруповань чорноморських бичків і суттєво доповнювати результати традиційних морфометричних досліджень.

### Література

Алферова Н. М., Нефедов Г. Н. Электрофоретическое исследование эстераз некоторых видов рыб Восточной Атлантики // Биохимическая генетика рыб. Материалы 1-го всесоюз. совещ. Ленинград, 6-9 февраля 1973 г. - Л., 1973. - С. 195 - 199.

Атраментова Л. О., Утевська О. М. Статистичні методи в біології: Підручник. - Х.: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2007. - 288 с.

Афанасьев Б. И., Беккер В. Э., Фетисов А. Н. Электрофоретическое исследование изозимов трех видов семейства Mусторhidae // Вопросы ихтиологии. - 1989. - Т. 29, вып. 6. - С. 1018-1026.

Берстон М. Гистохимия ферментов. - Москва: Мир, 1965. - 464 с. Заморов В. В., Рижко І. Л., Друзенко О. В. Поліморфізм естераз бичка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas) з акваторії острова Зміїний // Вісник Одеського національного університету. - Т. 15, Вип. 17.-2010.-С. 73-81.

Корочкин Л. И., Серов О. Л, Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов. - Москва: Наука, 1977. - 275 с.

Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. - Минск: Высшая школа, 1973. - 320 с. Davis B. J. Disk electrophoresis. 2. Method and application to human serum proteins //Ann. N. Y. Acad. Sci. - 1964. - 121. - P. 404-427.