

Заморов В. В., Рижко І. Л., Друзенко О. В., Каранда О. Б.
ПОЛІМОРФІЗМ ЕСТЕРАЗ БИЧКОВИХ РИБ ІЗ ОЗЕРА
САСИК

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
65058, Україна, м. Одеса, Шампанський пров., 2, e-mail:
kira_ril@mail.ru

В Одеській області розташована значна кількість причорноморських лиманів – Сасик (з 1980 р. водосховище), Тузловські, Шаболатський, Дністровський, Сухий, Хаджибейський, Куяльницький, Дофіновській, Григорівський, Тилігульський і ряд дрібніших. Лимани з давніх часів використовувалися жителями північного Причорномор'я для судноплавства, рибальства, видобутку солі. У ХХ столітті інтенсивність використання водойм у господарських цілях різко зросла. На їх берегах вирости нові населені пункти, глибоководні морські порти, промислові підприємства, насосні станції, курорти. Тим не менше, одним з головних напрямків господарського використання лиманів залишається рибництво і рибальство. Унікальність Сасика полягає у зміні його біоценозів з солонуватоводних на прісноводні в результаті антропогенного впливу. Планується повернення даного лиману до первісного стану, що знову призведе до зміни сформованих екосистем. Саме тому викликає значний інтерес дослідження популяцій бичкових риб в умовах зміни стану екосистем. Безпосереднє дослідження генетичної структури природних популяцій досить часто ускладнене, проте вивчення ферментів дозволяє виявити ступінь спорідненості між різними

угрупованнями, а також їх пристосованість і чутливість до різних зовнішніх чинників. Подібними генетичними маркерами, зокрема, є естерази, що пов'язано з їх високою внутрішньо- і міжвидовою мінливістю і простотою виявлення. Метою даної роботи було вивчення поліморфізму та експресії естераз у бичкових риб із озера Сасик.

Матеріалом для дослідження електрофоретичних спектрів естераз були самці та самки бичка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1811), бичка-пісочника *Neogobius fluviatilis* (Pallas), бичка-сірмана *Neogobius syrman syrman* (Nordmann) та бичка-зеленчака *Zosterisessor ophiocephalus* (Pallas), виловлені в озері Сасик (загалом 200 екземплярів). Всі особини були одного віку та однієї розмірно-масової категорії. Рибу заморожували і зберігали до моменту проведення аналізу при температурі -20°C . У даному дослідженні для розділення білків кислої природи застосовували варіант лужного електрофорезу у системі трис-гліцинового буферу (pH 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 (pH 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 (ДДо, відносні одиниці) відповідних ферментотримуючих зон гелевого блоку (Заморов, Рижко, Друзенко, 2010). Отримані первинні дані, що відображають рівень активності досліджуваних ферментів, статистично опрацьовували (Атраментова, Утевська, 2007).

Попередні дослідження (Заморов, Рижко, Друзенко, 2010) показали, що при проведенні вивчення поліморфізму та експресії естераз, внутрішньовидового різноманіття ензимної системи бичків найбільш показовими є ферменти зябрової та м'язової тканин. Саме вони демонструють найбільшу кількість фракцій, не дивлячись на те, що окремі естерази печінки і гонад виявляють найбільш високу активність. В представленій роботі основним завданням було

порівняння естеразних систем самців та самиць бичка-кругляка, бичка-пісочника, бичка-зеленчака та бичка-сірмана з озера Сасик. Тому для виконання цього завдання ми використовували лише зяброву тканину, як найбільш показову.

Естерази бичка-кругляка представлені чотирма групами. Перша група є найбільш електрофоретично рухливою, має досить невелику експресивність (0,211 у самців та 0,160 у самок), представлена лише однією повільнорухливою формою ($R_f = 0,440$). Друга і третя групи представлені двома фракціями: однією більш рухливою (F) і другою менш рухливою (S). Естераза 2 виявила найнижчий рівень активності у самців кругляка (лише 0,193 для S-форми, та 0,197 – для естерази 2_F). На протилежність від цього, естераза 3 виявила у самців найвищий рівень активності і досягла значення 0,766 (для форми 3_F). Для самок кругляка найвищий рівень активності не перевищував значення 0,291. Четверту групу естераз бичка-кругляка складають форми, які є найменш рухливими у поліакриламідному гелі.

Виявлені на електрофореграмах естерази бичка-пісочника за їх електрофоретичною рухливістю також можна поділити на чотири основні групи. Перша група, як і у випадку бичка-кругляка, представлена лише однією фракцією. Для пісочника саме естераза 1 виявила найнижчий рівень експресії (0,157 для самців та 0,173 – для самок). Вона була представлена не у всіх особин із досліджуваної вибірки пісочника. На відміну від кругляка, друга група естераз виявила лише одну повільнорухливу фракцію із досить низьким рівнем активності (0,255 і 0,271 для самців та самок відповідно). Для бичка-пісочника саме естераза 3 виявила найвищий рівень активності (максимальне значення у самців дорівнювало 1,630), який перевищив активність відповідних форм ферментів бичка-кругляка. Четверта група була представлена лише однією повільнорухливою фракцією із значеннями активності 0,513 для самців та 0,330 – для самок.

Всі виявлені на електрофореграмах форми естераз бичка-зеленчака за рівнем активності були близькі до відповідних форм ферментів бичка-пісочника. Але, на відміну від попередніх видів, лише естераза 2 виявила присутність більш рухливої (F) і менш рухливої (S) форм. Всі інші ферменти виявилися мономорфними і були представлені тільки повільнорухливими фракціями. Рівень

активності досліджуваних фракцій був досить близьким до бичка-пісочника.

Естерази бичка-сірмана за їх електрофоретичною рухливістю також можна поділити на чотири групи. Перша, найбільш електрофоретично рухлива (R_f від 0,440 до 0,450) група виявлялася лише у самок і була представлена повільнорухливою формою (1_s). Всі інші групи були представлені двома фракціями. Загалом рівень активності досліджуваних ферментів був найнижчим саме у бичка-сірмана і не перевищував значення 0,306 у самців (естераза 4) та у самок – 0,684 (естераза 3). Необхідно зазначити, що за винятком повільнорухливої естерази 4, для ферментів зазначеного виду була притаманна присутність у особин лише однієї форми естерази – більш або менш рухливої. Зрідка у особин виявлялися обидві фракції відповідних груп.

Проведення якісного та кількісного аналізу експресії ферментів естеролітичної системи бичка-кругляка, бичка-пісочника, бичка-зеленчака та бичка-сірмана, що мешкають в озері Сасик, показало, з одного боку, міжвидові відмінності в числі молекулярних форм естераз у риб, з іншого - високу ступінь подібності за електрофоретичною рухливістю окремих форм естераз, що визначається, ймовірно, як генотиповими, так і паратиповими факторами. Таким чином, отримані результати, що відображають окремі біохімічні ознаки фенотипу бичка-кругляка, бичка-пісочника, бичка-зеленчака та бичка-сірмана, можуть бути використані як при здійсненні моніторингу за динамічними процесами, що відбуваються в популяціях цих видів в екологічній системі озера Сасик, так і для проведення порівняльного аналізу під час вивчення споріднених популяцій і окремих видів роду *Neogobius*.

Література:

1. Атраментова Л. О., Утевська О. М. Статистичні методи в біології: Підручник. – Х.: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
2. 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.
3. Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов. – Москва: Наука, 1977. – 275 с.

4. Davis B. J. Disk electrophoresis. 2. Method and application to human serum proteins // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1964. – 121. – P. 404 – 427.