

**УДК 577.112:597.556.31:616-039.1**

## **ИЗУЧЕНИЕ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ БЕЛКОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ (НА ПРИМЕРЕ МОРСКОГО ЕРША)**

*Залевская И.Н., Королёва А.В., Нерода И.Н.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: anna.undymiel@gmail.com*

Проведены исследования сезонной динамики полиморфизма белков мышечной ткани морского ерша. Выявлены сезонные особенности электрофоретических спектров белков мышечной ткани морского ерша. Изучение особенностей белковых спектров мышечной ткани рыб может способствовать оценке физиолого-биохимического состояния рыб и среды их обитания.

**Ключевые слова:** морской ерш, электрофоретические спектры, белки, мышечная ткань, сезоны.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Установлено, что белковый полиморфизм тканей рыб связан с состоянием среды их обитания [1, 2]. Важным направлением в исследовании рыб является поиск биохимических маркеров состояния организмов рыб и среды их обитания [3].

Установлено, что при хроническом воздействии вредных химических веществ на организм выявляемые изменения отдельных показателей его жизнедеятельности достоверно отличаются от соответствующих показателей физиологической нормы [4, 5].

Изучение белкового состава тканей рыб в изменяющейся среде обитания при смене образа жизни имеет важное значение для объяснения причин неспособности ряда организмов адаптироваться к действию неблагоприятных факторов.

Наибольший интерес представляет изучение белков мышц рыб, так как мышечная ткань способна накапливать токсические соединения такие, как тяжелые металлы, нефтепродукты и т.д. При хроническом загрязнении среды обитания с возрастом происходит все большее накопление токсических веществ [3].

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы явилось исследование влияния сезонных факторов на полиморфизм белков мышечной ткани морского ерша.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Объектом исследования был выбран донный вид рыб – морской ерш (*Scorpaena porcus L.*), отловленный в апреле 2009 года в прибрежной части Черного моря в районе г. Севастополя. Данный вид полностью отвечает требованиям, предъявляемым к биомониторным объектам: повсеместное распространение в водоеме, хорошо изученная биология, отсутствие длительных миграций [3]. Материалом для исследования служил гомогенат мышечной ткани морского ерша.

Фракционный состав мышечных белков изучали методом диск-электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле [6]. Окрашивание электрофореграмм на общие белки проводили 1%-ным раствором амидочерного В в 7%-ной уксусной кислоте.

Стандартные среднестатистические электрофоретические спектры (ЭФ-спектры) рассчитывали с учетом относительной электрофоретической подвижности фракций [7]. Сравнивали как стандартные ЭФ-спектры, так и статистические показатели ЭФ-состава мышечной ткани.

Сравнительный анализ полученных спектров осуществляли качественно и количественно. Статистическая обработка данных производилась с помощью стандартной программы «EXCEL».

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Репродуктивный цикл является тем внутренним стержнем, вокруг которого вращается вся биология вида [8, 9]. Метаболические превращения в организме рыб тесно связаны с этим процессом [10–12]. На протяжении годового цикла изменения в морфометрических характеристиках, химическом составе и метаболической активности гонад сопряжены с изменениями в мышцах.

Известно, что весной часть  $\beta$ - и  $\gamma$ -фракций сыворотки крови некоторых видов рыб переходит в  $\alpha$ -фракцию [13].

Сезонные особенности электрофоретического состава белков мышечной ткани морского ерша представлены в Таблицах 1, 2 и Рисунке 1. Проведенные исследования показали, что среднестатистические электрофоретические спектры белков мышечной ткани морского ерша, отловленного в разные сезоны, содержат различное количество фракций: зима – 16, весна – 24, лето – 16, осень – 21.

В общей картине электрофоретических спектров белков мышечной ткани морского ерша, отловленного в различные сезоны, отмечены определенные различия. Наиболее подвижной, широкой и ярко выраженной фракцией миоальбуминовой зоны оказалась фракция среднестатистического белкового спектра особей, отловленных в весенний период ( $K_{\text{ЭФ}} = 0,82–0,87$ ) (рис. 1.). Миоальбуминовая фракция ЭФ-спектра белков рыб, отловленных зимой, также обладает высокой электрофоретической подвижностью ( $K_{\text{ЭФ}} = 0,84–0,87$ ), является яркой, но менее широкой по сравнению с описанной выше миоальбуминовой фракцией. Широкой и ярко выраженной, но обладающей меньшей электрофоретической подвижностью, оказалась миоальбуминовая фракция среднестатистического белкового спектра скорпен, отловленных в осенний период ( $K_{\text{ЭФ}}=0,79–0,84$ ). Миоальбуминовая фракция ЭФ-спектра белков рыб, выловленных летом, имеет наименьшую электрофоретическую подвижность ( $K_{\text{ЭФ}}=0,76–0,82$ ), является неяркой (табл. 1, рис. 1).

Наиболее гетерогенная преальбуминовая зона отмечена в среднестатистическом белковом спектре морского ерша, отловленного весной (4 фракции). Преальбуминовая зона ЭФ-спектров белков рыб, выловленных зимой и летом, также гетерогенна (3 и 2 фракции). В среднестатистическом белковом спектре скорпен, отловленных в осенний период, преальбуминовые фракции отсутствуют. ЭФ-спектры белков особей, выловленных в весенний и осенний периоды, имеют наиболее гетерогенные постальбуминовые зоны (5 и 4 фракции). А в постальбуминовой зоне

скорпен, отловленных зимой, выявлена яркая широкая фракция, совершенно не характерная для среднестатистических белковых спектров скорпен других сезонов. Значительная гетерогенность трансферриновой зоны отмечена в ЭФ-спектре особей, отловленных в осенний период. У рыб зимнего и летнего периода эта электрофоретическая зона наименее выражена, отмечены дисперсные фракции. Посттрансферриновая зона обладает высокой гетерогенностью (6 фракций) в ЭФ-спектрах скорпен, отловленных весной и осенью. У рыб всех сезонов отмечена значительная гетерогенность предстартовой зоны (от 4 до 6 фракций).

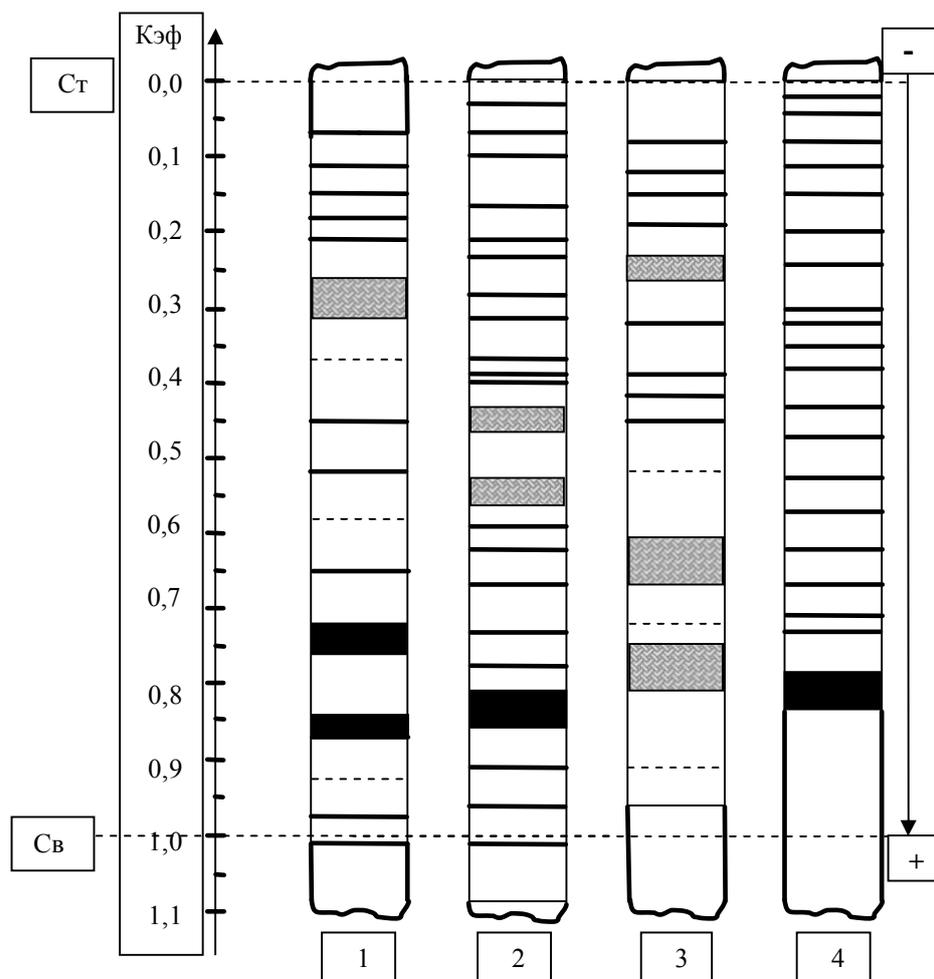


Рис. 1. Электрофоретические спектры белков мышечной ткани морского ерша, отловленного в разное время года: 1 – зимой; 2 – весной; 3 – летом; 4 – осенью

*Примечания:* Св. – свидетель; Ст. – старт; стрелкой обозначено направление миграции белков при электрофорезе.

**Таблица 1.**  
**Распределение фракций в электрофоретических спектрах белков мышечной ткани морского ерша**

Зоны ЭФ-подвижности	Пределы Кэф белковых фракций	Количество фракций в ЭФ-спектрах			
		Зима	Весна	Лето	Осень
Преальбуминовая	1,1 – 0,90	3	4	0	0
Миоальбуминовая	0,90 – 0,80	1 (я)	1(я)	1(п)	1(я)
Постальбуминовая	0,80 – 0,60	1, 1 (я)	5	2	4
Трансферриновая	0,60 – 0,40	3	3	3	4
Посттрансферриновая	0,40 – 0,20	3	6	3	6
Предстартовая	0,20 – 0,00	4	5	5	6

*Примечания:* я - яркая фракция, п – пограничная фракция

Изучение статистических показателей ЭФ-спектров выявило различные пределы числа электрофоретических фракций (n) в спектрах мышечных белков рыб, отловленных в различные сезоны. Минимальное количество фракций в белковом спектре отмечено у особей, выловленных зимой – 7 фракций, максимальное выявлено у скорпен, отловленных в весенний и летний периоды – 18 фракций (таблица 2). Наименьшее среднее количество фракций ( $M \pm m$ ) отмечено у рыб, выловленных зимой –  $10,42 \pm 0,33$ , а наибольшее – у особей, отловленных в весенний период –  $14,58 \pm 0,30$ . Остальные значения  $M \pm m$  колеблются в пределах доверительного интервала.

**Таблица 2.**  
**Статистические показатели электрофоретических спектров белков мышечной ткани особей морского ерша, отловленных в различное время года**

Сезоны	Показатели						
	Количество белковых фракций				Пределы Кэф		Сv, %
	min	max	$M \pm m$	$\sigma$	min	max	
Зима	7	13	$10,42 \pm 0,33$	2,09	0,00	1,18	20
Весна	10	18	$14,58 \pm 0,30$	1,96	0,00	1,16	13
Лето	8	18	$12,47 \pm 0,44$	2,90	0,00	1,09	23
Осень	8	16	$12,21 \pm 0,32$	2,15	0,00	1,02	18

В ходе статистической обработки данных отмечались различные пределы относительной электрофоретической подвижности (Кэф) белковых фракций мышечной ткани скорпен, отловленных в разные сезоны. Так, этот показатель у особей,

выловленных зимой, составил 0,00 – 1,18; весной – 0,00 – 1,16; летом – 0,00 – 1,09; осенью – 0,00 – 1,02. Как видно, большая электрофоретическая подвижность белковых фракций отмечена у скорпен, отловленных зимой и весной, наименьшая – осенью.

При вычислении коэффициента вариации (Cv) оказалось, что белковые спектры рыб исследуемых групп обладают средним варьированием числа фракций (от 13% до 23%) (варьирование считается средним, если  $Cv=11 - 25\%$  [6]). При сравнении среднестатистических электрофоретических спектров белков мышечной ткани рыб различного сезона выяснилось, что они подобны. Наибольшим коэффициентом подобия [14] обладают белковые спектры особей, выловленных весной и летом – 82%, а наименьшим – рыбы, отловленные в зимний и осенний периоды – 70%.

### ВЫВОДЫ

1. Выявлены сезонные особенности электрофоретических спектров белков мышечной ткани морского ерша. Эти особенности проявились в различном распределении белковых фракций в ЭФ-спектрах, в разной гетерогенности белковых зон, а также в большем количестве фракций в электрофоретических белковых спектрах особей, отловленных в весенний и осенний сезоны, и в большей электрофоретической подвижностью мышечных белков рыб, отловленных весной и зимой.
2. Изучение особенностей белковых спектров мышечной ткани рыб может содействовать более эффективной оценке физиолого-биохимического состояния рыб и среды их обитания.
3. При сохраняющейся стабильности уровня загрязненности акватории бухт для изучения качественных и количественных характеристик электрофоретических спектров лучшим временем для отлова рыб можно считать весенний и осенний сезоны.

### Список литературы

1. Королёва А.В. Изучение особенностей белкового состава мышечной ткани морского ерша из бухт с разным уровнем антропогенной нагрузки / А.В. Королёва // Естественные науки – 2010. – № 3 (32). – С. 93 – 98
2. Королёва А.В., Сравнительный анализ электрофоретического состава белков печени и мышечной ткани морского ерша, обитающего в бухтах с различным антропогенным воздействием / А.В. Королёва, И.Н. Залевская // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2011. – Вып. 3 (22). – С. 110 – 118
3. Комплексная оценка качества водной среды с помощью биомаркеров разного уровня / И.И. Руднева, Н.Ф. Шевченко, Л.С. Овен. [и др.] // Актуальные вопросы водной токсикологии. – 2004. – С. 124–145
4. Немова Н.Н. Биохимическая индикация состояния рыб / Н.Н. Немова, Р.И. Высоцкая. – М.: Наука, 2004. – 215 с.
5. Филенко О.Ф. Задачи и приемы биотестирования токсичности водной среды / О.Ф. Филенко // Методы биотестирования качества водной среды. – М.: Из-во МГУ, 1989. – С.3–9
6. Маурер Г. Диск-электрофорез / Г. Маурер. – М.:Мир, 1971. – 200 с.
7. Соркина Д.А. Сравнительная характеристика белковых и липопротеидных спектров сыворотки крови черноморских рыб / Д.А. Соркина, И.И. Руднева // Труды КМИ. – 1975. – Т. 66. – Вып. 1. – С. 61–63

8. Мейен В.А. К вопросу о годовом цикле изменений яичников костистых рыб / В.А. Мейен // Изв. АН СССР. – 1939. – № 39. – С. 229–418
9. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб / Шульман Г.Е. – М.: Пищ. пром-сть, 1972. – 372 с.
10. Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды / Сидоров В.С.– Л.: Наука, 1983. – 240 с
11. Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб / М.И. Шатуновский– М.: Наука, 1980. – 288 с.
12. De Long D.C. Nutrition of salmonid fishes. 6. Protein requirements of Chinook salmon two water temperatures / D.C. De Long, J.E. Halver, E.T. Mertz // J. Nutrition. – 1958. – Vol. 65. – № 4. – P. 589 – 599
13. Троицкий Г.В. О возможности трансформации альбумина и  $\gamma$ -глобулина плазмы крови в  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулины / Г.В. Троицкий // Биохимия. – 1961. – Т. 26. – № 1. – С. 44–51
14. Лакин Р.Ф. Биометрия / Лакин Р.Ф. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
15. Ромоданова Э.А. Влияние малых доз гамма-облучения на множественные молекулярные формы каталазы и пероксидазы инбредных линий кукурузы / Э.А. Ромоданова, Е.Ю. Львова // Радиобиология. – 1993. – Т. 33., Вып. 3. – С. 415–418.

**Залевська І.М. Вивчення сезонної динаміки білкового поліморфізму чорноморських риб (на зразку морського йоржа) / І.М. Залевська, Г.В. Корольова, І.Н. Нерода // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 4. – С. 67-72.**

Зроблені дослідження сезонної динаміки поліморфізму білків м'язової тканини морського йоржа. Були виявлені сезонні особливості електрофоретичних спектрів білків м'язової тканини морського йоржа. Вивчення особливостей білкових спектрів м'язової тканини риб може спроможувати оцінюванню фізіолого-біохімічного стану риб та їх середовища.

**Ключові слова:** морський йорж, електрофоретичні спектри, білки, м'язова тканина, сезони.

**Zalevskaya I.N. The investigation of season's dynamic of Black Sea fishes' protein polymorphism (on example of *Scorpaena porcus*) / I.N. Zalevskaya, A.V. Korolyova, I.N. Neroda // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 4. – P. 67-72.**

The investigations of season's dynamic of *Scorpaena porcus*' polymorphism of the muscle proteins were made. The season's peculiarities of the electrophoretic spectres of *Scorpaena porcus*' muscle proteins were ascertained. The learning of special features of fishes' muscle proteins' spectres may promote to the estimation of physiological and biochemical state of fishes and their environment.

**Keywords:** *Scorpaena porcus*, electrophoretic spectres, proteins, muscle tissue, seasons.

Поступила в редакцію 24.11.2011 г.