

В целом следует отметить, что накопление рыбами тяжелых металлов является активным, регулируемым и тканево-специфическим процессом. Интенсивность этого процесса зависит от концентрации металла в воде, его строения и химических свойств, физико-химических особенностей водной среды, а также от физиолого-биохимической активности организма рыб.

Ключевые слова: водная среда, железо, накопление, карп, щука

O. O. Rabchenyuk, V. O. Khomenchuk, B. Z. Lyavrin, V. Z. Kurant
Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ukraine

THE ACCUMULATION OF IRON IN ORGANISM OF FRESHWATER FISHES UNDER HIS HIGH CONTENT IN WATER ENVIRONMENT

The accumulation of iron in organism of freshwater fishes under action of higher content in water (2 and 5 MPC) was investigated. It was shown, that the greatest quantity of iron is contain in liver and gills of carp and pike. Also the great quantity of iron is located in kidney of pike. In muscles of investigated species of fishes concentration of iron is small, that attest about distribution between organs of this element.

The clear interconnection between content of metal in tissues and it concentration in water is not shown. Analysis of test results affirm about specific regularity of tissues distribution of iron and about peculiarity of it accumulation to depend on functional peculiarity of organs and tissues.

It is shown, that accumulation of heavy metals in fish organism is active and regulated tissue-specific process. The intensity of this process depends to the concentration of the metal in water, its building and chemical property, physical and chemical peculiarity of water environment, and also of physiologo-biochemical activity of fish organism.

Keywords: water environment, iron accumulation, carp, pike

Рекомендує до друку
В. В. Грубінко

Надійшла 20.02.2017

УДК [504.064:577.25](564.141)

І. В. ЮРЧАК

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

МЕТАЛ-ДЕПОНУВАЛЬНА ФУНКЦІЯ МЕТАЛОТІОНЕЇНІВ БЕЗЗУБКИ *ANODONTA ANATINA* (LINNAEUS, 1758) ЗА ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

Проведено дослідження розподілу металів (Zn, Cu, Cd) у тканинах травної залози та зябер моллюсків беззубки *Anodonta anatina* за участі металотіонеїнів (МТ) за впливу малої дози (2 мГр) іонізуючої радіації на організм. Встановлено, що у тканині травної залози опромінених моллюсків істотно зростає вміст Zn та зменшується вміст Cu та Cd, а Zn-депонувальна здатність МТ зменшується. Профіль елюції МТ зазнає змін у обох досліджених тканинах.

Ключові слова: металотіонеїни; двостулкові моллюски; іонізуюча радіація

Серед багатьох проблем радіаційного забруднення, які виникли після аварії на Чорнобильській АЕС, пролонгований ефект випромінювання малими дозами на біологічні системи є

малодосліджений, особливо на безхребетних. Зокрема, він може стосуватися перевищення адаптаційного потенціалу живих організмів щодо пошкоджувальних чинників довкілля [5].

Відомо, що двостулкові молюски характеризуються вираженою метал-депонувальною здатністю. Причому рівні накопичення металів в їх організмі відображують не тільки концентрацію забруднювачів у довкіллі, а й їх біологічну доступність для живих організмів, яка лежить в основі токсичності. Відтак, вважають, що рівні акумуляції іонів металів у молюсках є коректними біомаркерами у оцінці екологічних ризиків у водних екосистемах [1-3]. У клітинах надлишок металів цинку, купруму та кадмію акумулює метал-депонувальний та стрес-індукований протеїн металотіонеїн (МТ).

Метою дослідження стала оцінка адаптивного потенціалу двостулкового молюска до впливу малої дози радіації на прикладі функціональної активності МТ.

Матеріал і методи досліджень

Досліджували дорослі особини двостулкового молюска *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) діаметром мушлі близько 8 см і масою 42-47 г. Молюсків відбирали з умовно чистої місцевості (с. Івачів, вище м. Тернопіль у верхній ділянці р. Серет), яка належить до зони з мінімальним рівнем радіаційного забруднення (до 10 мкР/год), що відповідає природньому радіаційному фону згідно даних Тернопільського обласного лабораторного центру держсанепідслужби України.

Формували дві групи молюсків – одна контрольна, інша піддавалась дії радіоактивного опромінення у дозі 2мГр (Дослід). Опромінення здійснювали одноразово з допомогою рентгенівського апарату РУМ-20 (час експозиції – 2 с). Експозицію проводили в безводному середовищі у пластикових коробках. Молюсків досліджували через 14 діб після опромінення. МТ тканин молюсків виділяли шляхом гель-фільтрації розчину термостабільних сполук як описано у [2]. Загальний вміст металів (Zn, Cu, Cd) у тканинах та фракціях МТ молюсків вимірювали після спалювання зразків у перегнаній нітратній кислоті в співвідношенні 1:5 (маса:об'єм). Вірогідність відхилення двох рядів значень обчислювали з використанням *t*-тесту Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив іонізуючого випромінювання не викликав смертності молюсків порівняно з контролем. Отримані результати підтверджують інформацію про резистентність двостулкових молюсків *A. anatina* до малих доз радіації [5]. Розподіл форм термостабільних протеїнів молюска за гель-хроматографії представлено на рисунку.

У контрольних тварин спостерігається класичний розподіл на дві фракції, з яких низькомолекулярна відповідає МТ-вмісній фракції за низкою ознак [2]. Ця фракція з молекулярною масою близько 10 кДа у обох тканинах відповідає критеріям термостабільності та типовим характеристикам УФ-спектру (високий показник співвідношення D254/D280).

За дії іонізуючого випромінювання у дозі 2 мГр спостерігається деформація профілю елюції із зміною об'єму виходу фракції, що свідчить про ознаки гетерогенності, які можуть бути викликані окисними модифікаціями молекули протеїну. Аналіз спектральних ознак термостабільних протеїнів свідчить про наявність типових ознак МТ-вмісної фракції (рис. В, Г) як у травній залозі, так і у зябрах контрольної та дослідної груп. Визначення складу металів у МТ та тканині свідчить, що за дії іонізуючої радіації спостерігаються істотні зміни у вмісті та співвідношенні всіх досліджуваних металів (табл.) . Відтак, у молюсків дослідної групи у травній залозі вміст цинку збільшується, що поєднується з вивільненням його з МТ та зменшенням депонувальної здатності протеїнів з 5% у контролі до 2,3% в досліді. Разом з тим, МТ опромінених молюсків ефективніше акумулюють купрум як в травній залозі, так і в зябрах, тоді як загальний вміст купруму, а також кадмію у тканинах суттєво зменшується.

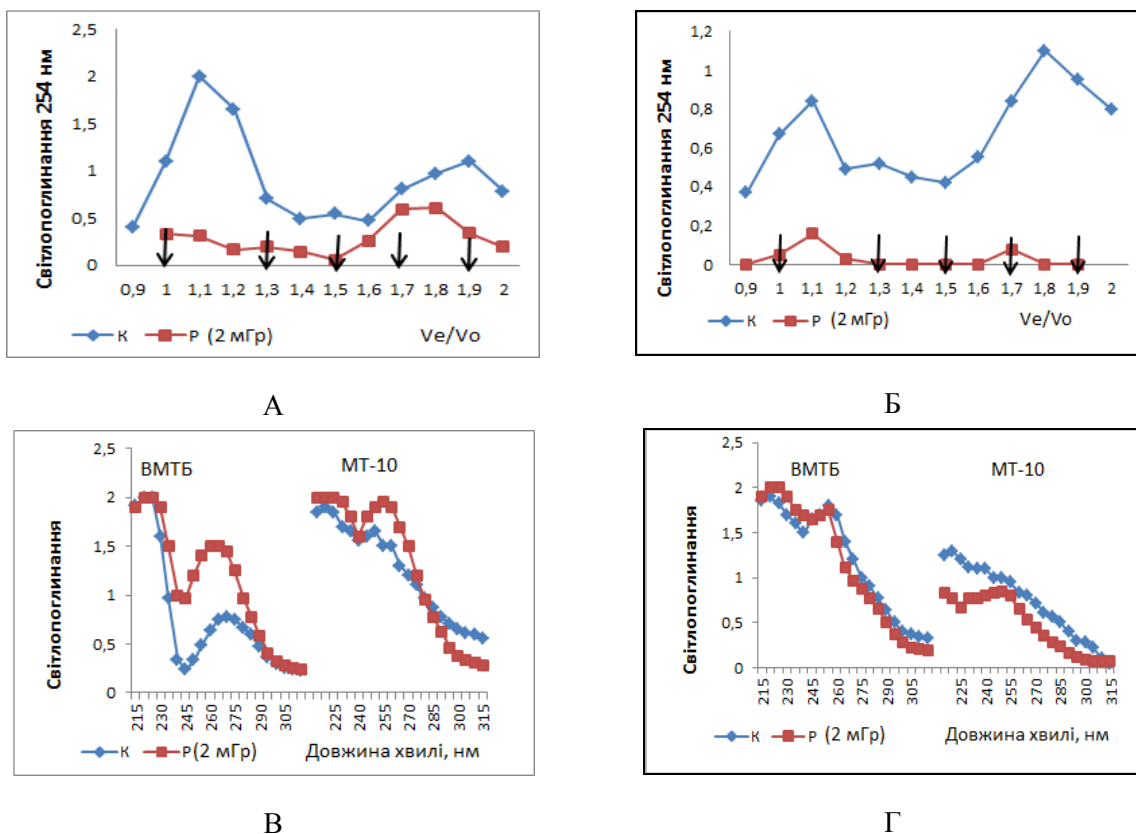


Рис. Профілі елюції (А-травна залоза, Б-зябра) та УФ-спектри (В-травна залоза, Г-зябра) за гель-розподільчій хроматографії на сефадексі G-50 термостабільного екстракту травної залози і зябер двостулкового молюска за дії радіоактивного випромінювання (доза 2 мГр). Примітка. Стрілками (Рис. А, Б) вказано об'єм (V_e/V_0) елюції маркерів: 1,0– хімотрипсिनогену (25,8 кДа), 1,3– міоглобін (17,0 кДа), 1,5 – цитохрому *c* (12,3 кДа), 1,7 – убіквітину (8,6 кДа), 0,96 – окиснений β -ланцюг інсуліну (3,4 кДа); V_e – об'єм елюції, V_0 –зовнішній об'єм гелю. ВМТБ – відповідає виходу високомолекулярної фракції, МТ-10 – фракція з M_r 10 кДа.

Таблиця

Розподіл металів у тканинах та металотіонеїнах травної залози та зябер двостулкового молюска *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) у контролі та за дії на організм іонізуючого випромінювання (Р), мкг/г вологості тканини (%), частка від загального вмісту), $M \pm m$, $n=3$

Метали	Групи	Загальний вміст		Вміст у металотіонеїнах, (%), частка від загального вмісту)	
		Травна залоза	Зябра	Травна залоза	Зябра
Cu	Контроль	2,25±0,02	2,13±0,07	1,25±0,28 (55,6%)	1,27±0,29 (59,6%)
	Дослід	1,79±0,04*	1,34±0,07*	1,41±0,06 (78,7%)	1,20±0,02 (89,5%)
Zn	Контроль	28,00±5,01	91,64±15,25	1,40±0,02 (5%)	3,20±0,23 (3,5%)
	Дослід	46,06±3,57*	93,5±4,77	1,04±0,12* (2,3%)	3,32±0,19 (3,5%)
Cd	Контроль	1,44±0,16	1,34±0,20	1,13±0,11 (78,5%)	1,28±0,22 (95,5%)
	Дослід	1,16±0,06*	0,74±0,12*	0,88±0,02 (75,9%)	0,72±0,11 (97,3%)

Примітка. * – відмінність між контролем та дослідною групою вірогідна, $p < 0,05$

З літературних джерел відомо про дослідження ефективності депонування металів МТ за дії іонізуючого випромінювання у миші за впливу рентгенівського випромінювання у діапазоні доз від 1 до 80 Гр. У цій роботі було доведено, що рівень експресії МТ-1 не пов'язаний із перерозподілом металів у складі МТ [4]. Проте у нашому дослідженні віддалені наслідки одноразового опромінення у молюска проявляються як дисбаланс металів, втрата здатності МТ акумулювати цинк, що може позначатися на здатності організму формувати адаптивну відповідь на вплив несприятливих чинників середовища існування та пояснити молекулярні реакції, у тому числі і відповідь окисного стресу на дію випромінювання [2, 5]. Роль дисбалансу цинк/купрум у тканинах та МТ двостулкового молюска для формування адаптивної відповіді організму за дії низьких доз радіації потребує детальнішого дослідження.

Висновки

Проведене дослідження показало, що метал-депонувальну функцію металотіонеїнів молюска *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) можна використовувати як неспецифічний біомаркер для оцінки з'ясування наслідків впливу іонізуючого випромінювання в умовах природного середовища.

1. *Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates* / [I. M. Sokolova., M. Frederich, R. Bagwe et al.] // *Mar. Environ. Res.* — 2012. — Vol. 79. — P. 1—15.
2. *Falfushynska H. In situ exposure history modulates the molecular responses to carbamate fungicide Tattoo in bivalve mollusk* / H. Falfushynska, L. Gnatyshyna, O. Stoliar // *Ecotoxicol.* — 2013. — Vol. 22, N 3. — P.433—445.
3. *Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their use as biomarkers* / [J. C. Amiard, C. Amiard-Triquet, S. Barkaet al.] // *Aquat. Toxicol.* — 2006. — Vol. 76. — P. 160—202.
4. *Koropatnick J. Organspecific metallothionein induction in mice by X-irradiation* / J. Koropatnick, M. Leibbrand, M. G. Cherian // *Radiat. Res.* — 1989. — Vol. 119. — P. 356—365.
5. *Interpopulational variability of molecular responses to ionizing radiation in freshwater bivalve Anodonta anatina (Unionidae)* / [H. Falfushynska, L. Gnatyshyna, I. Yurchak et al.] // *Sci. Total Environ.* — 2016. — Vol. 568. — P. 444—456.

И. В. Юрчак

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

МЕТАЛЛ-ДЕПОНИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANODONTA ANATINA* ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Проведено исследование распределения металлов (Zn, Cu, Cd) в тканях пищеварительной железы и жабр моллюсков беззубки *Anodonta anatina* с участием металотионеинов (МТ) при воздействии малой дозы (2мГр) ионизирующей радиации на организм. Установлено, что в ткани пищеварительной железы облученных моллюсков существенно увеличивается содержание Cu и Cd, а Zn-депонирующая функция способность МТ уменьшается. Профиль элюции МТ претерпевает изменения в обеих исследованных тканях.

Ключевые слова: металлотіонеїни; двустворчатие моллюски; ионизирующее излучение

I. V. Yurchak

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

METAL-KEEPING FUNCTION OF METALLOTHIONEINS IN THE MUSSEL *ANODONTA ANATINA* UNDER THE EFFECT OF IONIZING RADIATION ON THE ORGANISM

Freshwater organisms are exposed to multiple anthropogenic stressors including chemical pollution and warming that can affect health of the resident organisms and their responses to novel challenges. Among the many problems of radioactive contamination that arose after the Chernobyl accident, prolonged effect of small doses of radiation on biological systems is one of modt unexplored, especially in invertebrates. We investigated the effect of *in situ* exposure history on molecular responses to ionizing radiation, in unionid mollusks *Anodonta anatina*. Bivalve mollusks are

characterized by highly expressed properties to accumulate excess of metals. In the cells the excess of metals (Zn, Cu, Cd) is accumulating in the metal-buffering and stress-induced proteins metallothioneins. The aim of the present study was to evaluate the adaptive capacity of these proteins in the freshwater bivalve mollusk under the exposure to low dose of radiation.

Bivalve mollusk from relatively pristine area were exposed to 2 mGy X-ray radiation followed by 14 days of recovery (R-group) or to control conditions (C-groups). The pristine (reference) site was located in a forestry area in the upstream portion of Seret River near the village Ivachiv away from the sources of industrial contamination. An ionizing radiation could be considered as a novel stressor for the mollusks from this area.

Effects of ionizing radiation did not cause bivalve mollusk mortality compare with controls. Results confirm information about the resistance of bivalve mollusk *Anodonta anatina* to low doses of radiation.

The distribution of metals (Zn, Cu, Cd) in the digestive gland and gills tissues of the mussel *Anodonta anatina* with the participation of metallothionein (MT) under the effect of low dose of ionizing radiation (2mG) on the organism was evaluated. It was established significant increase in the level of Zn and decrease of Cu and Cd levels and Zn-binding ability of MT in the digestive gland of the irradiated mussels. The elution profile of MT is changed in both tissues. Analysis of spectral characteristics thermostable proteins indicates the presence of typical signs of MT-containing fractions in the digestive gland and the gills in the control and experimental groups.

To summarize, this study showed that metallothioneins characteristics in the bivalve mollusk can be used as a nonspecific biomarker for assessing the effects of ionizing radiation in the environment. Further studies will be devoted to the responses of specimens from the areas subjected to the suspected effect of radiation

Keywords: metallothioneins, bivalve mollusk, irradiation

Рекомендує до друку

В. В. Грубінко

Надійшла 09.02.2017