

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ



КОВАЛЬ Вікторія Олександрівна

УДК 597.554.3:591.481.1+577.42/48

**ВПЛИВ ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ
НА МОРФОЛОГІЧНІ ТА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ
КОРОПА ЛУСКАТОГО В УМОВАХ ЗИМІВЛІ**

03.00.10. – іхтіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

КИЇВ – 2012

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Чернігівському національному педагогічному університеті імені Т.Г.Шевченка

Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор
Яковенко Борис Володимирович,
Чернігівський національний педагогічний
університет імені Т.Г. Шевченка,
професор кафедри хімії

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Курант Володимир Зіновійович,
Тернопільський національний педагогічний
університет ім. Володимира Гнатюка,
декан хіміко-біологічного факультету;

кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник, доцент
Шевченко Петро Григорович,
Національний університет біоресурсів і
природокористування України,
завідувач кафедри загальної зоології та іхтіології.

Захист дисертації відбудеться 12 червня 2012 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.213.01 при Інституті гідробіології НАН України за адресою: 04210 м. Київ-210, проспект Героїв Сталінграду, 12.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту гідробіології НАН України, м. Київ, проспект Героїв Сталінграду, 12.

Автореферат розісланий 11 травня 2012 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор біологічних наук
старший науковий співробітник



А. В. Ліщук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Важливим етапом природного циклу та технологічного процесу вирощування товарної риби є зимівля рибосадкового матеріалу та дорослих особин. В умовах середніх широт зимівля коропа триває біля 6 місяців. Вихід риб із зимівлі залежить від низки чинників: готовності риб до зимівлі; відповідності режиму зимівлі адаптивним можливостям риб; ступеню стійкості коропа до паразитичних й інфекційних хвороб; температурного і гідрохімічного режимів води тощо (Камлюк, 2009). У зимовий період під впливом абіотичних чинників інтенсивність метаболічних процесів у більшості риб, включно і коропа, уповільнюються, зменшуються потреби в енергетичному забезпеченні організму (Губин, 1998). Однак основні фізіологічні функції організму змінюються з такою інтенсивністю, яка достатньо забезпечує енергією системи підтримування гомеостазу та формування адаптивних функцій. Загальновідомо, що зимівля риб – це не пасивний процес, при якому уповільнюються обмінні реакції, а адаптивно-метаболічний період життя пойкилотермних тварин, при якому вони переходять на ендогенне живлення. Проте голодування риб можна розглядати не тільки як перехід на економне ендогенне живлення, але і як стан довготривалого стресу, пов'язаний зі змінами активності багатьох ферментативних процесів (Щербина, 1988). Так, у цей період знижуються секреція й активність ферментів травного тракту (пепсину, трипсину, амілази, ліпази та інших (Сорвачов, 1982; Остроумова, 2009), у печінці – гексокінази, глюкокінози, глюкозо-6-дегідрогенази. Водночас у стані голодування активується велика кількість протеолітичних ферментів, з допомогою яких відбувається мобілізація білків м'язів (Сидоров та співавт., 1985, 1987).

Крім того, відомо, що зимівля риб супроводжується впливом токсичних чинників абіотичного і біотичного походження (Маляревская, Комаровский, 1991; Линник, 1999, 2005). Різні за хімічною будовою сполуки призводять до порушення в організмі риб окремих ланок метаболізму (Грубінко, 1995; Курант, 2002; Лук'яненко, 1987). Серед хімічних речовин, що забруднюють континентальні водойми, значну небезпеку для водяних тварин, у тому числі і риб, представляють такі токсиканти, як йони важких металів, аміак та фенол (Романенко, 2001; Осадчий, 2008). Вони здатні взаємодіяти з білками, нуклеїновими кислотами, ліпідами та іншими високомолекулярними і низькомолекулярними хімічними компонентами гідробіонтів, порушуючи метаболічні та фізіологічні процеси в їх організмі, що призводить до ослаблення, захворювання окремих особин та поступового вимирання видових популяцій (Курант, 2004; Столяр, 2005; Гандзюра, Грубінко, 2008). Вплив на риб низьких температур та зазначених токсикантів вивчено добре (Сидоров, 1987; Лук'яненко, 1985, 1987; Грубінко, 1995, 2001; Курант, 2001). Проте комплексна оцінка стану коропів за низькотемпературного голодування на фоні токсичного пресу спеціально не аналізувалася. Передбачається, що за такого впливу може виникати метаболічний стрес, розвиватися глибокі

порушення обміну речовин, які призводять до перерозподілу внутрішньотканинних пластичних і енергетичних ресурсів, зміни активності важливих ферментних систем організму, що в кінцевому рахунку забезпечує перебудову всього метаболізму тварин, спрямованого на адаптацію до дії стрес – чинників.

Аналіз цих змін став змістом нашої дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами. Дана робота є складовою частиною держбюджетної науково-дослідницької роботи 5/97 «Дослідження механізмів адаптації прісноводних риб до токсикантів водного середовища, розробка на їх основі методів біохімічного моніторингу і модельних екосистем для очищення забруднених вод», яка виконувалась в межах координаційного плану за фаховим напрямком «Біологія» Міністерства освіти і науки України.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – вивчити вплив абіотичних (зниження температури, зимове голодування) і антропогенних чинників водного середовища (токсиканти різної хімічної природи) на морфологічні та фізіолого-біохімічні показники коропа лускатого.

Для досягнення поставленої мети було визначено наступні основні завдання:

- дослідити зміни морфометричних показників коропа за дії токсичних речовин різної хімічної природи (фенол, важкі метали, аміак);
- вивчити зміни загального метаболізму в печінці, зябрах і білих м'язах коропа в умовах зимового голодування;
- вивчити динаміку кетокислот за дії токсикантів;
- з'ясувати рівень активності окремих ферментних систем, що забезпечують енергетичну адаптацію коропів до дії токсикантів (фенол, важкі метали, аміак) в умовах зимового голодування;
- проаналізувати включення [U-C¹⁴] гліцину як одного з субстратів енергетичної адаптації коропів до токсикантів на фоні низькотемпературного голодування;
- оцінити можливість використання досліджуваних морфологічних і біохімічних показників коропа для оцінки токсичного навантаження водного середовища на організм риб.

Об'єкт дослідження – токсична дія фенолу, важких металів та аміаку на риб в умовах низькотемпературного голодування.

Предмет дослідження – зміни величин морфологічних і фізіолого-біохімічних показників коропа лускатого за дії токсичних речовин під час зимівлі.

Методи дослідження: іхтіологічні, токсикологічні, біохімічні, морфологічні, екологічні, УФ-спектрофотометрія, радіоізотопні, методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено комплексне дослідження метаболічних процесів у коропа лускатого в умовах зимового голодування за низьких температур та за дії токсикантів органічної природи (фенолу) і неорганічної природи (йони біогенних та небіогенних металів, аміаку). Виявлено сезонні відмінності в активності ферментів

енергозабезпечення цих процесів. Доведено, що реакція організму у вигляді зміни активностей ферментів коропа залежить від хімічної природи токсиканту та від температури середовища. Встановлено загальні закономірності формування компенсаторно-адаптивної відповіді метаболічних процесів на дію токсикантів різної природи та умови використання $[U-C^{14}]$ гліцину в процесах тканинного дихання за дії токсикантів. Визначенні морфологічні зміни у зябрах, печінці та селезінці коропа за дії вище зазначених токсикантів. Отримані результати вносять суттєвий вклад у розуміння механізмів адаптації водяних організмів, а також у фізіологію, біохімію, екологію і екотоксикологію риб.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі отриманих результатів виявлено ключові показники для оцінки морфо-функціональної адаптації коропа до дії токсикантів різної хімічної природи: вміст білку, глюкози, кетокислот, активностей ферментів вуглеводного та енергетичного обміну. Дані результати можна використовувати для оцінки стану та розвитку інтоксикацій в організмі риб, а також для моніторингу забруднень водного середовища. Результати роботи можуть стати основою для розробки рекомендацій щодо зниження токсичного впливу забруднюючих речовин на риб в зимовий період в умовах діяльності рибогосподарських підприємств.

Особистий внесок здобувача. Авторкою самостійно критично опрацьовано фахову літературу з теми дослідження, власноручно виконано експериментальну частину дисертаційної роботи, здійснено статистичну обробку результатів, аналіз отриманих результатів проведено за участю наукового керівника. За результатами проведених досліджень дисертанткою сформульовано висновки.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи доповідалися на: Міжвузівській науково-практичній конференції (Україна, Чернігів, ЧДП імені Т.Г.Шевченка, 1996); VII, X Українському біохімічному з'їздах (Україна, Київ, 1997; Одеса, 2010); I Міжнародній науково-практичній конференції «Екологія і молодь» (Республіка Білорусь, Гомель, 1998); 3, 4, 5 з'їздах Гідроекологічного товариства України (Тернопіль, 2001; Феодосія, 2005; Житомир, 2010); 4; 5 Міжнародних наукових конференціях «Біорізноманіття і роль тварин в екосистемах» (Дніпропетровськ, 2007, 2009); X Міжнародних новорічних біологічних читаннях (Миколаїв, 2010); I біологічних читаннях «Фізіолого-біохімічні та екосистемні механізми формування токсико-резистентності біологічних систем» (Тернопіль, 2011)

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 робіт, з них 6 статей у наукових фахових виданнях, решта – матеріали і тези доповідей на з'їздах і конференціях.

Структура та обсяг роботи. Дисертація викладена на 153 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел (всього 278 найменувань, з них кирилицею – 209 та латиницею – 69). Роботу проілюстровано 3 схемами, 22 таблицями та 35 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ НА ОРГАНІЗМ РИБ

У розділі розкриваються джерела та шляхи потрапляння токсикантів у водні екосистеми, особливості накопичення фенолу, йонів важких металів та аміаку в організмі риб. Наведено результати щодо реакції-відповіді риб на дію чинників, які залежать від систематичного положення, віку, статі, фізіологічного стану. На підставі цих результатів зроблено висновок про необхідність з'ясування особливостей метаболізму риб при зміні абіотичних (температура, голодування) і антропогенних (фенолу, дії важких металів, аміаку) чинників водного середовища.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили в лабораторних умовах на дворічках коропа лускатого (*Surginus carpio* L.). Проведення експериментів відповідали нормам біоетики, досліди на рибах виконували із дотриманням Ухвал Першого національного конгресу з біоетики.

Риб відбирали з природної водойми (зимувальний ставок Чернігівського рибокомбінату) протягом 1996-2010 років. За результатами іхтіопатологічних спостережень на рибах нашкірних збудників паразитичних хвороб не виявлено. Риб тримали в 200-літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою та розміщували з розрахунку 1 екземпляр на 40 л води в умовах стандартного газового і гідрохімічного режимів. Величина рН коливалась у межах 7,6-7,8; вміст кисню – 7,0-8,0 мг/л; вуглекислого газу – 2,2-2,8 мг/л; температуру в акваріумах, в яких утримували контрольні та піддослідні риби, підтримували близькою до природної залежно від пори року. Під час експерименту риб не годували.

Вивчали вплив фенолу, йонів марганцю, цинку, міді, свинцю та аміаку на організм коропа лускатого у концентрації, що відповідає 2 рибогосподарським гранично допустимим концентраціям (Осадчий, 2008). При цьому концентрації досліджуваних токсикантів (у перерахунку на йони) були наступні (мг/дм³): марганцю – 2,4; цинку – 2,0; міді – 0,2 та свинцю – 0,2. При дослідженні дії аміаку, його вміст був 0,1 мг/ дм³, рН 7,6; у контролі його рівень не перевищував 0,014 мг/ дм³. Ці концентрації є такими, що здебільшого використовуються в дослідженнях при вивченні водних інтоксикацій і викликають формування в організмі риб адаптивної реакції на стрес-чинник (Хлебович, 1981).

Умови інтоксикації моделювали шляхом внесення у воду акваріумів, де знаходилися дослідні групи риб, буферної суміші NH₄OH+NH₄Cl; фенолу; відповідних солей MnCl₂·4H₂O, ZnSO₄·7H₂O, CuSO₄·5H₂O, Pb(NO₃)₂, у концентраціях, що відповідають 2 рибогосподарським ГДК. Для досягнення стану розвитку та максимального прояву функціонування компенсаторно-адаптивних реакцій до токсиканту аклімацію риб проводили протягом 14 діб. Цей період вважається достатнім для формування захисних фізіолого-біохімічних механізмів до дії токсикантів (Хлебович, 1981). З метою зниження впливу на риб їх власних екзометаболітів воду в акваріумах змінювали кожні три дні.

Вимірювання морфологічних показників риб проводили згідно з методичних рекомендацій Т. А. Баклашова (1983). Визначали зоологічну та промислову довжину риб, найбільшу та найменшу висоту тіла, а також масу риб, масу нутрощів, печінки. Розраховували коефіцієнт вгодованості (за Фултоном (1902), за Кларком (1928), за Сальниковим, Кравченко); індекси печінки (печіночно-соматичний індекс, ПСІ), висоти тіла риб, відносної товщини тіла риб, компактності риб, м'ясистості риб.

З метою визначення активності ферментів гомогенати тканин готували на 0,25М сахарозі у співвідношенні 1:10. Виділення мітохондрій здійснювали за загальноприйнятою методикою (Зінич, 1986), додатково очищували центрифугуванням у градієнті густини сахарози 0,32 – 1,2 М (Арутюнян, 1978) у горизонтальному роторі. Кетокислоти визначали кількісно гідразиновим методом, використовуючи тонкошарову хроматографію на пластинках «Silufol» UV-VIS 254 (ЧССР), як описано в роботі І. В. Лисняк (1981). З метою визначення включення в метаболізм міченого гліцину, його вводили *in vivo* в черевну порожнину коропа ін'єкцією 19,5 кБк на 1 г живої речовини. Час інкубації 3 години. Досліджували вміст гліоксилової кислоти і кетоглутарату зазначеною вище методикою І. В. Лисняк (1981). Після охолодження, нейтралізації та висушування їх вносили в середовище, яке містило толуол, і визначали радіоактивність у сцинтиляційному лічильнику ЛКВ (Швеція).

З метою встановлення рівнів активності ферментів енергетичного обміну досліджували лактатдегідрогеназу (ЛДГ) активність у цитоплазматичній фракції, сукцинатдегідрогеназу (СДГ) – у мітохондріальній (Biochemical information, 1975). Визначали активність одного з ферментів пентозофосфатного шунту – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (Г-6-ФДГ). Для визначення можливості утворення в організмі коропа глюкози з неуглеводних компонентів досліджували незворотні реакції глюконеогенезу. Визначення активності глюкозо-6-фосфатази (Г-6-Ф-ази) проводили за С. П. Львовою (1985), фруктозо-1,6-дифосфатази (Ф-1,6-ДФази) – за В. Н. Орехович (1964).

Вміст глюкози визначали фотометричним методом, вимірюючи інтенсивність кольорової реакції глюкooksидазним методом.

Вміст білку в екстрактах ферментних препаратів та субклітинних фракціях визначали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951). Одержані результати опрацьовано методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

ЗМІНИ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КОРОПА ЛУСКАТОГО ЗА ДІЇ ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ

Аналіз результатів дослідження показав, що у зовнішньому вигляді риб (зміні забарвлення покривів тіла, плавців), які утримувались в акваріумах з токсикантами у концентрації 2 ГДК протягом чотирнадцяти діб, істотних змін не відбулось. Але внутрішні органи (печінка й селезінка) та зябра мали невеликі видозміни. Так, в печінці риб, які перебували в умовах свинцевого токсикозу, з'явилась зернистість тканин та жирове переродження. Це можна пояснити тим, що цей орган є місцем знешкодження токсичних речовин. Можливо, це пов'язано з тим, що йони досліджуваного металу вплинули на

процес ліпідного обміну (Курант, 2001). Щодо іншого органу (селезінки), який помітно змінився при дії таких токсикантів, як свинець і фенол, нами було зафіксовано збільшення розмірів і темно-червоне забарвлення особливо у коропів, що знаходились у розчині з йонами металів.

Дослідження зябрового апарату показали, що серед токсикантів у кількості 2 рибогосподарських ГДК найбільші зміни викликав свинець – зяброві пелюстки потемніли. Токсикант органічної природи – фенол, призводив до знебарвлення кінцівок пелюсток. Враховуючи, що для риб контакт «водне середовище – організм» перш за все відбувається через зябра, можна говорити про те, що зябровий апарат риб є достатньо інформативним для визначення у воді природних водойм токсичних речовин. Необхідно зазначити, що дослідження, які проводили в середині зимівлі при температурі води 3-5°C, показали, що у риб морфологічні зміни зябрового апарату не відбуваються. Можливо, холодна вода маскує токсичний ефект.

Необхідно відмітити, що такі токсиканти, як йони мангану і аміак не викликали істотних змін у зовнішньому вигляді досліджуваних тканин коропа. Це можна пояснити тим, що марганець є біогенним металом, а аміак є екзогенним метаболітом риб і в певні періоди річного циклу кількість його у водоймах різко збільшується, тому організм коропа більш пристосований до впливу цих речовин і відповідно вони є менш токсичними.

Результати, одержані при вивченні морфометричних показників коропа лускатого в умовах токсикозу протягом 14 діб показали, що жоден серед них вірогідно не змінюється. Помітні зміни спостерігаються щодо коефіцієнту вгодованості. Йони важких металів, які знаходились у водному середовищі, такі, як: свинець, манган збільшували величину цих показників.

При дії йонів свинцю відбувалось незначне зростання коефіцієнту вгодованості на 18% (за Фултоном), 16% (за Кларком) і всього 2% (за Сальниковим, Кравченко). Йони міді мали протилежну дію – викликали до зменшення коефіцієнту вгодованості за Фултоном на 43%. На відміну від йонів важких металів, нами було зареєстровано зниження коефіцієнту вгодованості при дії водного середовища, яке містило фенол і аміак. Отриманні результати показали, що концентрації цих токсикантів за такий короткий час не могли вплинути на морфологічні показники організму коропа. Це є підтвердженням того, що дворічки коропа лускатого більш стійкі до дії токсичних речовин, ніж молодь особини (личинка, мальок) (Мехед, 2005).

Серед розрахункових індексів найбільші зміни спостерігались в ПСІ (рис. 1), але результати були вірогідними лише у риб, які утримувались у воді з йонами міді. Токсиканти, такі, як: фенол, аміак, йони марганцю та міді – зменшували печінково-соматичний індекс. Йони свинцю і цинку мали тенденцію до збільшення ПСІ. Цей показник можна використовувати у моніторингу водних об'єктів щодо забруднення токсикантами.

Аналіз результатів щодо вмісту вологи в тканинах коропа виявив, що кількість її залежить в першу чергу від самої тканини; по друге – від періоду

зимового голодування. Так, дещо більший вміст води на початку голодування спостерігається у зябрах, менший – у м'язовій тканині.

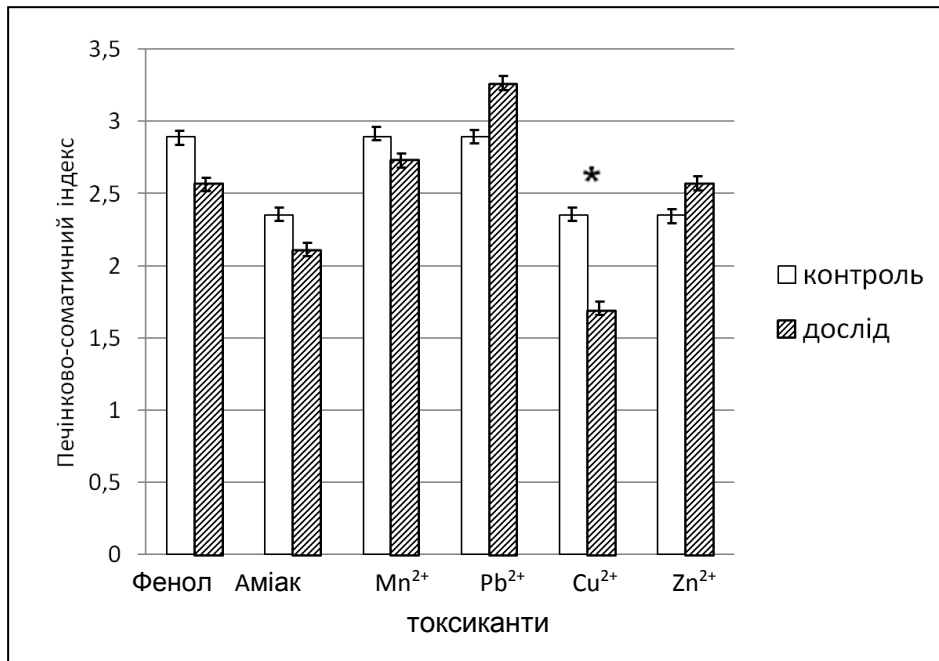


Рис. 1. Вплив токсикантів різної хімічної природи на печінково-соматичний індекс. * – показник вірогідний відносно контролю.

У печінці зареєстровано найменший вміст води, що склав 75,6%. Таким чином, досліджувані тканини в порядку зменшення вмісту води на початку зимівлі можна розташувати так: «зябра – м'язи – мозок – печінка». У кінці зимового голодування (лютий – березень) вміст води в тканинах коропа змінюється і це можна представити наступним ланцюгом: «м'язи – зябра – печінка – мозок». Отже, у процесі зимового голодування найбільші зміни вмісту води спостерігаються в м'язовій тканині. Це зростання води у м'язах можна пояснити використанням білків для енергетичних потреб. Схожі зміни було виявлено К.Ф. Сорвачовим (1985), який досліджував голодування *Suprinus carpio* L. при температурі 12 – 15°C, вміст води у м'язах становив 88%. Найменші зміни протягом зимівлі відбуваються у мозку.

Результати експерименту стосовно впливу токсичних речовин на вміст води в різних тканинах коропа показали, що за дії таких токсикантів, як: аміак, йони марганцю, міді та фенолу – збільшувався вміст її в тканинах печінки. Лише йони цинку, навпаки, зменшували величину досліджуваного показника ($79,0 \pm 0,5\%$ – дослід, проти $81,0 \pm 1,0\%$ – контроль). У м'язовій тканині коропа аміак і йони мангану не впливали на вміст даного показника в цій тканині. Фенол і йони свинцю зменшували його вміст в м'язах на 2,4 і 2,1% відповідно.

Таким чином, можна зробити висновок, що серед досліджуваних токсикантів в кількості 2ГДК найменші зміни щодо вмісту води викликав аміак. Фенол, як токсикант органічної природи, йони свинцю та цинку викликали найсуттєвіші зміни в усіх експериментальних тканинах коропа порівняно з іншими токсикантами. Нашими дослідженнями підтверджується той факт, що токсиканти викликають найбільші зміни в зябрах, які є контактним органом риб, та печінці, яка бере участь у знешкодженні токсичних речовин.

ДІЯ ЧИННИКІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ДИНАМІКУ ОСНОВНИХ СУБСТРАТІВ МЕТАБОЛІЗМУ В РІЗНІ ПЕРІОДИ ЗИМОВОГО ГОЛОДУВАННЯ

Результати дослідження, проведені нами з метою вивчення вмісту білку в різні періоди зимового голодування, показали, що на початку зимівлі найбільший вміст білку спостерігається в печінці, на 30% менше – у м'язовій тканині, а у зябровій тканині кількість білку була меншою на 40% порівняно з печінкою. Під час голодування за дії низьких температур відбуваються зміни вмісту загального білку, в першу чергу, у м'язовій тканині. В кінці зимівлі вміст білку у м'язах складає 71% від величини показника початку зимівлі. У печінці і зябрах спостерігаються незначні коливання вмісту загального білку.

За дії екстремальних чинників водного середовища, яке містило токсиканти – фенол, аміак, йони важких металів, у тканинах риб також відбувались зміни. Дія фенолу проявлялась у зменшенні кількості загального білку як у печінці, так і в м'язовій тканині. На початку зимівлі кількість білку в печінці зменшилась на 22%, у середині голодування – на 12%; а в кінці процесу зимового голодування – на 35% ($p < 0,05$). Схожа картина спостерігалась і у м'язовій тканині – вміст білку зменшувався у всі періоди зимівлі. У зябрах фенол практично не викликав змін загального білку. Аналогічну картину, щодо фенолу спостерігав Б. А. Флеров (1973).

Аміак має протилежну дію щодо вмісту загального білку в тканинах. У печінці, білих м'язах і зябрах зростає величина досліджуваного показника, але вона не вірогідна. Це можна пояснити тим, що риби в процесі життєдіяльності продукують дану речовину, а в певні періоди року вона накопичується у ставках, тому короп більш адаптований до аміаку.

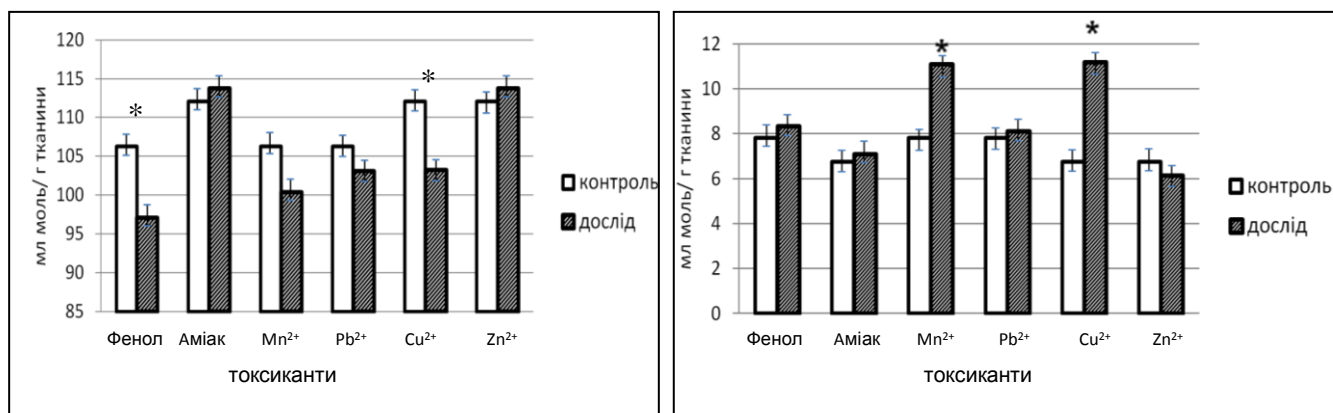
Отже, незначні коливання рівня загального білку за дії токсикантів різної хімічної природи в кількості 2ГДК свідчать, що ці токсиканти не впливають на вміст загального білку.

Аналіз результатів дослідження виявив, що за дії токсикантів різної хімічної природи вміст глюкози в тканинах коропа змінюється неоднозначно (рис. 2). Так, у присутності фенолу, йони марганцю, свинцю та міді – у печінці знижується вміст глюкози. Йони цинку та аміак – навпаки збільшували вміст досліджуваного показника.

У білій мускулатурі спостерігається протилежна картина – більшість токсикантів, викликали збільшення вмісту глюкози в цій тканині. Так, йони мангану призводили до вірогідного зростання величини досліджуваного показника (контроль – $7,81 \pm 0,64$ мкмоль/г тканини; дослід – $11,10 \pm 0,40$ мкмоль/г тканини) та йони міді (контроль – $6,75 \pm 0,52$ мкмоль/г тканини; дослід – $11,10 \pm 0,61$ мкмоль/г тканини).

Лише йони цинку сприяли зниженню цього метаболіту ($P \geq 0,05$). У зябровому апараті під дією цих же токсикантів спостерігались такі ж зміни як у печінці. Так, вміст глюкози в зябрах зменшується на 36% ($P \leq 0,05$) при дії іонів свинцю. Протилежний вплив щодо вмісту глюкози, порівняно з тканинами печінки викликали йони міді – відбувається зростання цього показника в 1,6

раза (контроль – $9,70 \pm 0,47$ мкмоль/г тканини; дослід – $15,25 \pm 0,44$ мкмоль/г тканини). Вірогідне збільшення вмісту глюкози у зябрах можна пояснити тим, що деякі важкі метали мають певну специфіку проникнення крізь зябровий апарат «вхідні ворота».



А

Б

Рис. 2. Вміст глюкози в тканинах коропа при дії токсикантів різної хімічної природи (А – у печінці; Б – у білих м'язах), $M \pm m$; $n=5$.

В умовах низьких температур для пойкилотермних тварин зростає важливість наявності глюкози як метаболіту, який запобігає замерзанню тканинної рідини, бере участь в осморегуляції і синтезі проміжних продуктів обміну. Збільшення кількості глюкози відбувається за рахунок реакцій глікогенолізу, про що свідчить активізація ферментів цього процесу та зниження рівня вільних амінокислот, зокрема гліцину, аланіну та серину, які слугують вихідними субстратами для глюкози в реакціях глікогенолізу. Метаболічний шлях перетворення гліцину досліджений у роботі (Яковенко, 1993), свідчить про те, що ця амінокислота через низку реакцій (утворення гліоксилату, тартронового напівальдегіду та гліцерату) перетворюється у 3-фосфогліцерат. Останній є не тільки типовим субстратом гліколізу, але й використовується для синтезу глюкози. У таблиці 1 наведено результати досліджень з перетворення $[U-^{14}C]$ – гліцину у гліоксильову кислоту.

Аналіз отриманих результатів показав, що в умовах досліду в усіх досліджуваних тканинах знайдена гліоксильова кислота, але в різних кількостях (табл. 1). У результаті дії на організм коропа водного середовища, яке містило йони важких металів, зменшується радіоактивність утвореного гліоксилату після введення $[U^{14}C]$ – гліцину. Так, йони свинцю пригнічують появу гліоксильової кислоти в печінці на 20%, у м'язах – на 68% в зябрах – на 56% порівняно з контролем. Така картина спостерігається за дії марганцю, цинку і міді. Як відомо, марганець вважається біогенним металом і входить до складу багатьох ферментів, тому йони даного токсиканта в печінці змінюють вміст гліоксильової кислоти всього на 8%. Цинк, на відміну від марганцю, в печінці коропа лускатого найбільше знижує вміст гліоксильової кислоти.

У м'язовій тканині йони цинку мають найменший вплив (дослід – $0,38 \pm 0,009$ тис. імп./хв., контроль – $0,75 \pm 0,003$ тис. імп./хв.), що і підтверджується літературними джерелами (Синюк, 2002; Курант, 2001). Підвищені

концентрації йонів цинку в м'язах коропа збільшують кількість усіх сірковмісних амінокислот, знижують вміст гліцину, що свідчить про використання цієї амінокислоти через утворення гліоксилату в процесах метаболізму, зокрема, в енергетичній його гілці.

Таблиця 1

Радіоактивність гліоксилової кислоти, утвореної після введення $[U^{14}C]$ -гліцину за умов дії йонів важких металів у печінці, зябрах та м'язах коропа лускатого (експозиція 3 год. тис. імп./хв. $M \pm m$, $n=5$)

Йони важких металів	Тканини		
	Печінка	Білі м'язи	Зябра
Контроль	2,02 \pm 0,01	0,75 \pm 0,01	0,84 \pm 0,01
Свинець	1,62 \pm 0,01*	0,24 \pm 0,01*	0,37 \pm 0,01*
Марганець	1,85 \pm 0,02	0,21 \pm 0,01*	0,24 \pm 0,07*
Цинк	0,64 \pm 0,01*	0,38 \pm 0,01*	0,29 \pm 0,04*
Мідь	1,10 \pm 0,05*	0,22 \pm 0,01*	0,13 \pm 0,01*

Примітка. * – тут і надалі відмінності в досліді і контролі статистично вірогідні; $P \leq 0,05$.

Йони міді здійснюють найбільший вплив на процес утворення гліоксилової кислоти після введення $[U^{14}C]$ – гліцину в зябрах та м'язовій тканині. Так, у зябрах цей токсикант пригнічує на 80% вміст гліоксилової кислоти. Це пояснюється тим, що основним шляхом надходження міді в організм риб є їх абсорбція з води залозистим апаратом зябер.

Про функціональний стан циклу трикарбонних кислот з'ясували на підставі визначення радіоактивності α -кетоглутарату в печінці, зябрах і м'язах коропа. Отримані результати показали (табл. 2), що α -кетоглутарова кислота, яка з'явилась після введення $[U^{14}C]$ – гліцину, на відміну від гліоксилової кислоти, має іншу тканинну специфічність. Так, найбільший вміст даної кетокислоти спостерігався у білих м'язах, дещо менший – в зябрах, і найменший – у печінці.

Таблиця 2

Радіоактивність кетоглутарової кислоти, утвореної після введення $[U^{14}C]$ -гліцину за умов дії йонів важких металів у печінці, зябрах та м'язах коропа лускатого (експозиція 3 год. тис. імп./хв. $M \pm m$, $n=5$)

Йони важких металів	Тканини		
	Печінка	Білі м'язи	Зябра
Контроль	0,83 \pm 0,01	1,27 \pm 0,01	1,23 \pm 0,05
Свинець	0,41 \pm 0,01*	0,26 \pm 0,03*	1,18 \pm 0,02
Марганець	0,19 \pm 0,01*	0,21 \pm 0,01*	1,64 \pm 0,03*
Цинк	0,18 \pm 0,09*	0,20 \pm 0,01*	1,15 \pm 0,02
Мідь	0,21 \pm 0,02*	0,22 \pm 0,01*	0,28 \pm 0,01*

Нашими дослідженнями з'ясовано, що залежно від йону металу, який знаходиться у водному середовищі, змінюється радіоактивність α -кетоглутарової кислоти в досліджуваних тканинах коропа. Усі важкі метали в печінці і

білих м'язях зменшують вміст α -кетоглутарату. В зябрах риб спостерігається інша картина: йони свинцю і цинку в концентрації 2 рибогосподарських ГДК виявляють лише тенденцію до зменшення α -кетоглутарової кислоти на 4% і 7% (відповідно); у той час як марганець сприяє утворенню кетокислоти на 33%, тим самим активує функціонування циклу трикарбонових кислот. Лише йони міді уповільнюють утворення α -кетоглутарової кислоти з [$U^{14}C$] – гліцину на 77%.

Очевидно це пояснюється тим, що зябра постійно контактують з водним середовищем і схильні реагувати на перші незначні коливання (2ПДК) у зміні концентрацій йонів важких металів. Зміни, які відбуваються у печінці, можна пояснити тим, що вона є органом знешкодження токсичних речовин, а також більшість з цих металів накопичується в ній.

ВПЛИВ ТОКСИКАНТІВ НА ШЛЯХИ ЕНЕРГОЗАБЕСПЕЧЕННЯ В ТКАНИНАХ КОРОПА ЛУСКАТОГО В РІЗНІ ПЕРІОДИ ЗИМОВОГО ГОЛОДУВАННЯ

Одним з найважливіших чинників середовища, який визначає вихід риб з зимівлі, як відомо, є температура. Результати досліджень показали, що активність ЛДГ коливається в достатньо великих межах залежно від періоду зимового голодування. Імовірно, що навесні збільшення активності лактатдегідрогенази і відповідно інтенсивність протікання процесу гліколізу пов'язана з мобілізацією внутрішніх процесів, викликаних підняттям температури навколишнього середовища та зростанням рухової активності риб.

У середині зимівлі максимально зростає активність ферментів глюконеогенезу (табл. 3).

Таблиця 3

Активність фруктозо-1,6-дифосфатази та глюкозо-6-фосфатази
в печінці і білих м'язях коропа в умовах зимового голодування,
мкмоль P_i, мг білка /хв. ($M \pm m$, n=10)

Період дослідження	Печінка		Білі м'язи	
	Ф-1,6-ДФаза			
Початок зимівлі	0,35 \pm 0,04		0,56 \pm 0,09	
Середина зимівлі	0,51 \pm 0,02*		0,38 \pm 0,05*	
Кінець зимівлі	0,28 \pm 0,09		0,67 \pm 0,09	
	Г-6-Ф-за			
	цитоплазма	мітохондрії	цитоплазма	мітохондрії
Початок зимівлі	1,66 \pm 0,34	2,55 \pm 0,44**	0,12 \pm 0,03	0,09 \pm 0,03
Середина зимівлі	2,19 \pm 0,14	1,84 \pm 0,28	0,29 \pm 0,04	0,15 \pm 0,03
Кінець зимівлі	0,94 \pm 0,16	0,99 \pm 0,14	0,08 \pm 0,02	0,17 \pm 0,04**

* – відмінності вірогідні відносно величини показників початку зимівлі.

** – відмінності вірогідні відносно величини показників цитоплазма – мітохондрії.

Збільшення їх інтенсивності в печінці в зимовий період можна пояснити підвищенням вмісту вихідних субстратів. Відомо, що в цей період відбувається посилення активності протеолітичних ферментів, процесу дезамінування амінокислот та використання їх вуглеводних скелетів у глюконеогенезі та

енергетичному обміні. Дослідження показали, що на початку і в кінці зимівлі гліюконеогенез більш інтенсивно відбувається у білих м'язах. Це період, коли риби достатньо рухомі, а для нормальної роботи м'язової тканини необхідна глюкоза. У білих м'язах, що становлять найбільшу частину організму коропа, генерування енергії відбувається в анаеробних умовах шляхом субстратного фосфорилування (Bone, 1966; Hignera, 1985). У зв'язку з цим більш інтенсивний гліюконеогенез у білих м'язах коропа вказує на можливість самозабезпечення їх глюкозою. Якщо звернути увагу на загальну масу білих м'язів, то глюкоза, мабуть, синтезується в достатній для їх функціонування кількості. Для синтезу цього вуглеводу в м'язах можуть використовуватись жири (Щербина, 1988), під час виходу коропа із зимівлі – амінокислоти, а в першу чергу – гліцин, якого в білих м'язах перед зимівлею більше, ніж інших амінокислот (Яковенко, 1993).

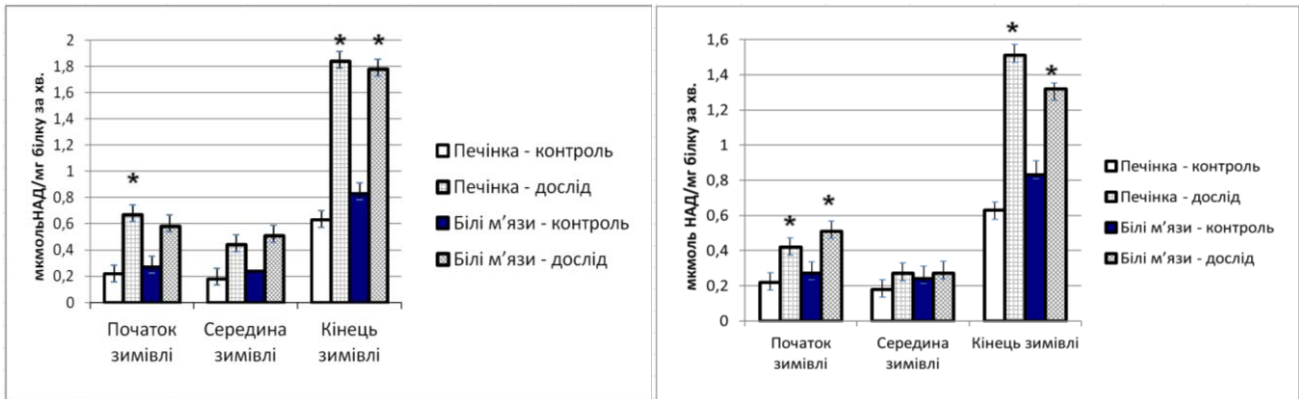
Визначення активності ферментів енергетичного обміну та пентозофосфатного шляху, що відіграють важливу роль у гомеостазі органів і тканин, може допомогти в оцінці фізіологічного стану організму і його реакціях на дію чинників навколишньої середовища. Одержані результати щодо впливу фенолу (рис. 3 (I-A)) свідчать, що в печінці, як і у м'язовій тканині, активність ЛДГ збільшується. Так, у березні – квітні у білих м'язах коропа активність досліджуваного ферменту гліколізу складала в експерименті $1,78 \pm 0,09$ мкмоль NAD/ мг білка за хв. проти контролю – $0,83 \pm 0,05$ мкмоль NAD/мг білка за хв., ($p < 0,05$). У печінці навесні спостерігається зростання активності у 2,5 рази.

У дослідженнях проведених при токсичному навантаженні аміаком (рис. 3 (II-A)), було встановлено, що забруднювач, який є екзаметаболітом риб, активує ЛДГ. Але на величину цього показника впливає період зимового голодування. Так, на початку зимівлі в тканинах печінки активність ЛДГ за дії токсиканта зростає практично вдвічі (контроль – $0,22 \pm 0,02$ мкмоль NAD/ мг білка за хв., дослід – $0,42 \pm 0,05$ мкмоль NAD/ мг білка за хв.). У середині процесу голодування, коли температура водного середовища знизилась нижче 5°C , дія аміаку зменшується, відповідно величина досліджуваного показника змінюється тільки в 1,5 рази. На весні, коли підвищується температура води від 6°C до 9°C , а риба ще не живиться, ці зміни сягають свого максимального значення – лактатдегідрогеназна активність зростає у 2,4 рази ($p < 0,05$). У м'язовій тканині відбуваються такі ж зміни, але з меншою інтенсивністю.

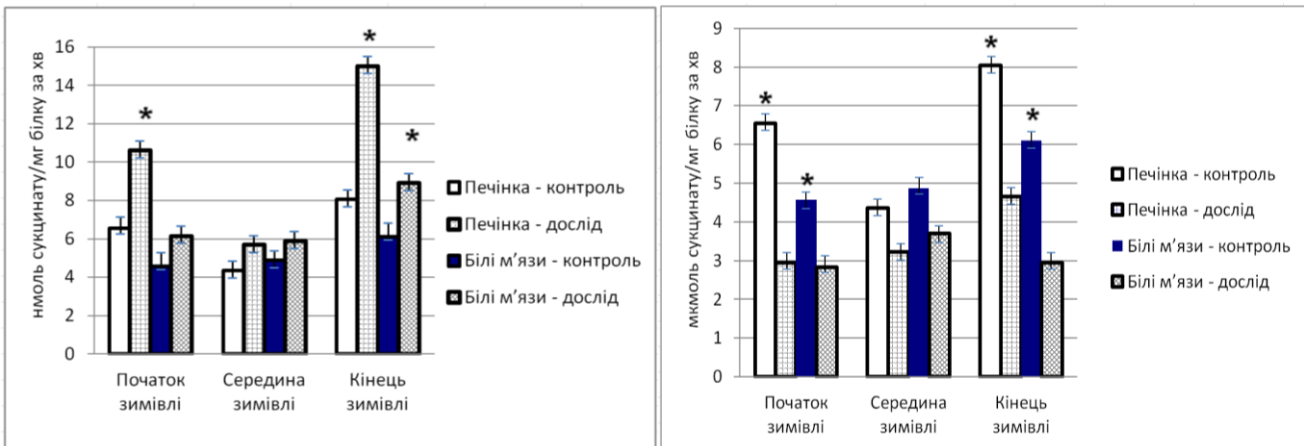
При вивченні впливу токсичного середовища, яке містило аміак, на один з ферментів циклу трикарбонних кислот – сукцинатдегідрогеназу, були одержані наступні результати (рис. 3(II-B)). У присутності аміаку активність ферменту зменшувалась як на початку процесу зимового голодування, так і в кінці його. Восени (перший етап голодування) за дії токсиканту активність СДГ в печінці коропа знизилась на 55% ($P < 0,05$). Водночас у білих м'язах пригнічення активності ферменту відбулось всього на 38%. У середині зимівлі вплив аміаку на активність сукцинатдегідрогенази найменший. Зниження активності відбувається в печінці на 26%, у білій мускулатурі – на 24%.

Дія фенолу на активність сукцинатдегідрогенази, на відміну від аміаку, є протилежною (рис. 3(I-B)). Збільшення активності досліджуваного ферменту

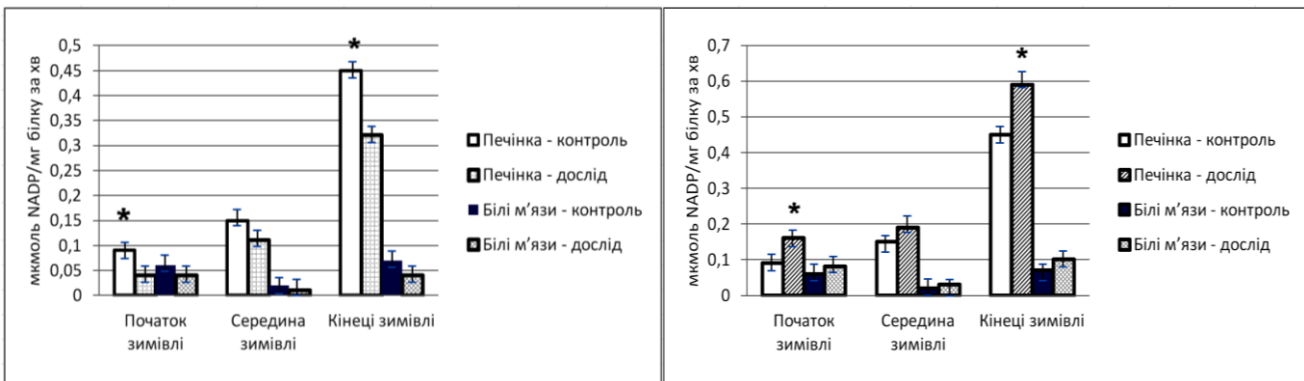
циклу трикарбонових кислот підтвердили загальні пристосування організму до токсичних речовин у період зимового голодування. Мінімальні зміни активності СДГ було зареєстровано в січні – лютому, тобто в той період, коли риби менш активні та не живляться. У березні – квітні, у період виходу риб із зимового голодування, відбувається зростання активності СДГ, як було показано раніше, і дія фенолу має максимальний ефект. Так, в печінці ріст активності ферменту відбувається практично вдвічі – ($14,97 \pm 0,22$ нмоль сукцината / мг білка за хв. – дослід, проти $8,05 \pm 0,15$ нмоль сукцината / мг білка за хв. – контроль). Майже в 1,5 раза зросла активність СДГ в білих м'язах.



А



Б



В

I

II

Рис. 3. Вплив фенолу (I) та аміаку (II) на активність ферментів енергозабезпечення в печінці і білих м'язах коропа в умовах зимівлі, ($M \pm m$; $n=5$). А – активність лактатдегідрогенази; Б – активність сукцинатдегідрогенази; В – активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Результати експерименту стосовно впливу фенолу та аміаку на активність Г-6-ФДГ-зи показано в рис. 3(І-В, ІІ-В). За дії аміаку спостерігається збільшення активності цього ферменту як у м'язовій тканині, так і в печінці в усі періоди зимівлі. Але у м'язах ці зміни були менш істотними, ніж у печінці. У жовтні – листопаді на першому етапі зимового голодування відбувається зростання активності Г-6-ФДГ у 1,7 раза в тканинах печінки, у середині зимівлі ці зміни склали всього 26%, а після зимівлі різниця між дослідною групою та контролем складала 32%. Отримані нами результати на початку і в кінці періоду зимового голодування у тканинах печінки є вірогідними.

Відповідь організму риб на фенол була протилежною: активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази зменшувалась. Так, на початку зимового голодування активність ферменту в печінці коропа пригнічувалась на 66%, у середині зимівлі всього на 27%, а в останній весняний період зміни активності досліджуваного ферменту склали 71% від контролю ($p < 0,05$) ($0,32 \pm 0,02$ проти $0,45 \pm 0,04$ мкмоль NADP/мг білка за хв.). У м'язовій тканині спостерігається лише тенденція до зменшення активності ферменту.

Результати експерименту стосовно токсичного впливу йонів важких металів на активність лактатдегідрогенази показали, що усі використані метали збільшували активність дослідного ферменту як у білій мускулатурі, так і в печінці (рис. 4).

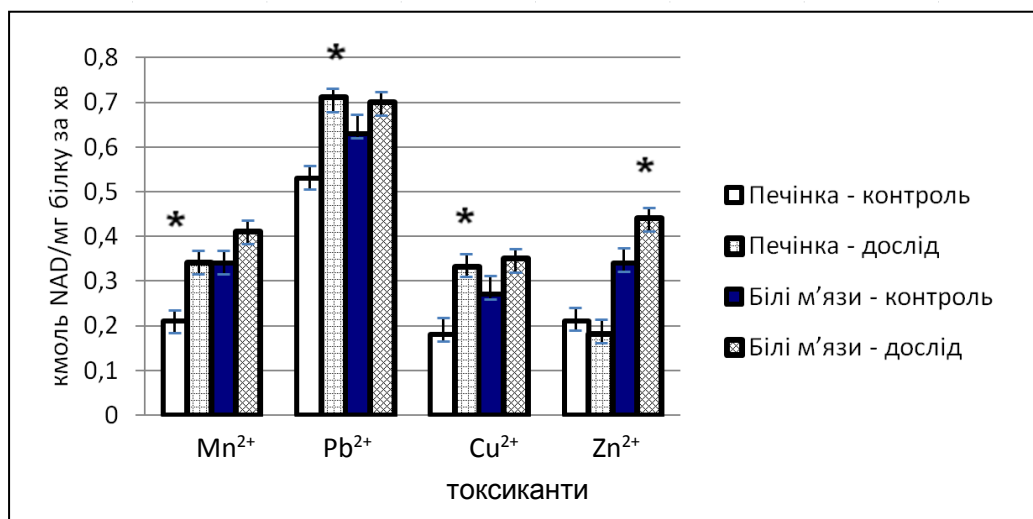


Рис. 4. Активність ЛДГ-зи в печінці і білих м'язах коропа в умовах зимівлі за дії йонів важких металів, $M \pm m$; $n=5$.

У печінці йони мангану призводять до зростання активності ЛДГ на 62%; свинцю – на 33%; міді – в 83%. Лише йони цинку пригнічують ферментативну активність у цій тканині.

У білих м'язах відбуваються менш значні зміни активності лактатдегідрогенази. Так, за дії йонів свинцю активність ЛДГ зростає всього на 11% ($p > 0,05$). Дія Cu^{2+} викликає збільшення ЛДГ на 29% ($0,35 \pm 0,03$ мкмоль NAD/мг білка за хв. – дослід; $0,27 \pm 0,02$ мкмоль NAD/мг білка за хв. – контроль). Найбільший вплив у м'язах викликають йони цинку, які збільшують активність дослідженого ферменту на 39% ($p < 0,05$). Таку особливість щодо дії йонів цинку можна пояснити накопиченням цього біометалу у м'язовій тканині.

Отже, дія токсикантів різної хімічної природи у водному середовищі в кількості 2 рибогосподарські ГДК викликає зростання активності лактатдегідрогенази, тим самим вони є стимуляторами процесу гліколізу. Тобто, при збільшенні токсичного навантаження організму коропа необхідна більша кількість енергії. У кінці зимівлі це може призводити до виснаження організму риб та зниження рибопродуктивності.

Таким чином, проведені дослідження можуть бути доказом адаптивних перебудов обміну речовин, направлених на виживання риб в умовах токсикозу, спричиненого йонами важких металів, фенолом та аміаком в умовах зимівлі.

Зазначені субстратні та ензимні зміни спрямовані на забезпечення захисту від токсикантів і загалом забезпечують гомеостаз функціональної активності органів і систем шляхом регуляції субстратно-енергетичного балансу.

Підводячи підсумки досліджень дії токсикантів різної хімічної природи на організм коропа в умовах зимівлі можна дійти висновку, що токсиканти (2ГДК), надходячи в організм викликають у першу чергу біохімічні зміни (рис. 5), потім – морфологічні.

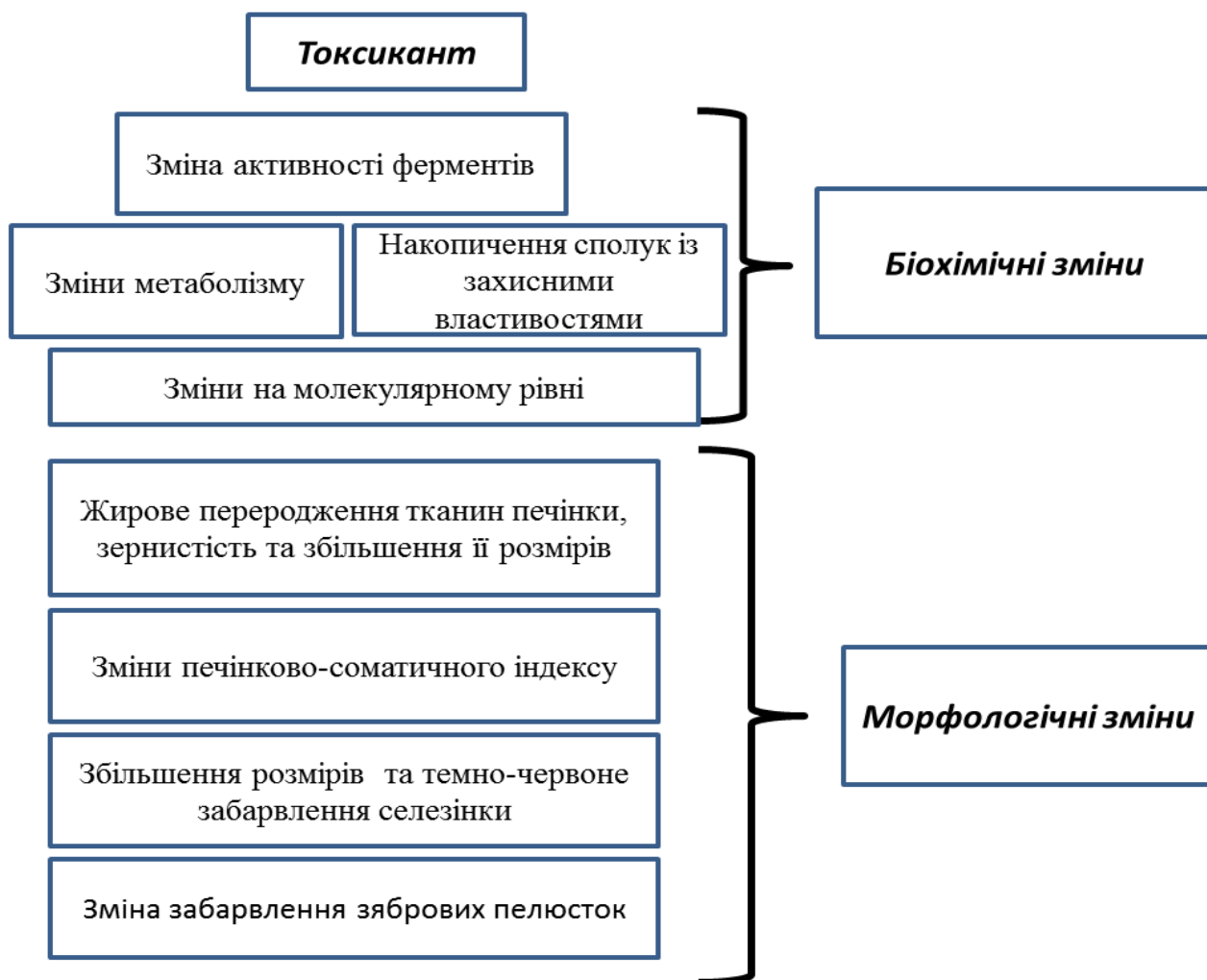


Рис. 5. Схема розвитку патології при інтоксикації (2 ГДК) у коропа лускатого.

Мінімальний вплив токсикантів у всіх досліджуваних тканинах риб був узимку, а максимальний – навесні. Це пояснюється зміною інтенсивності обміну речовин у риб та коливанням температури води у водоймі.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено узагальнення отриманих результатів комплексного впливу в зимовий період змін температури, процесу голодування та токсикантів різної хімічної природи на морфологічні й біохімічні показники коропа лускатого. Ці результати доповнюють і розширюють наші уявлення про адаптативні механізми гідробіонтів до токсичної дії фенолу, йонів важких металів (марганцю, цинку, міді, свинцю) та аміаку водного середовища.

1. Величини морфологічних показників коропа в умовах токсикозу, викликаного речовинами різної хімічної природи в кількості 2 рибогосподарських ГДК, протягом чотирнадцяти діб, вірогідно, не змінювались. За дії йонів свинцю коефіцієнт вгодованості за Фултоном зростав лише на 18%. За дії йонів міді відбувалось вірогідне зменшення індексу печінки на 29%. У зовнішньому вигляді печінки риб, які утримувались у воді з йонами важких металів, виявлено зернистість тканин та жирове переродження.

2. За дії фенолу та аміаку в тканинах коропа змінюється вміст загального білку. Ці зміни аналогічні впливу зимового голодування і підтверджують гіпотезу про універсальність механізмів формування адаптивної відповіді на дію стрес-чинника природного або антропогенного походження. Так, у печінці та м'язах риб протягом зимівлі поступово знижується загальний вміст білку. Під впливом фенолу у печінці зменшується величина цього показника: на початку зимівлі – на 22%; в середині – на 12% і в кінці – на 35%, порівняно з контролем.

3. Показано, що активність досліджуваних ферментів (ЛДГ, СДГ, Г-6-ФД-аза Ф-1,6-ДФ-аза, Г-6-Ф-аза) значно змінюється в печінці і м'язах коропа лускатого в період зимового голодування. Так, активність сукцинатдегідрогенази печінки в середині зимівлі зменшується на 33%, а в кінці зимового голодування зростає на 23%, порівняно з початком зимівлі.

4. Токсичний вплив фенолу, аміаку, важких металів у великій мірі визначається періодом зимового голодування риб. У грудні – січні реакція-відповідь організму (у формі змін активності ферментів) на дію стрес-чинника мінімальні. У печінці за дії фенолу ЛДГ активність змінюється в 1,5 раза, тоді як у лютому – березні різниця між дослідом та контролем складає 2,4 рази.

5. Йони важких металів, які знаходились у водному середовищі в кількості 2 рибогосподарських ГДК, викликали зростання в печінці та білих м'язах коропа активності лактатдегідрогенази в межах 4-32%, сукцинатдегідрогенази – 20-40%, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – 25-89%, тим самим вони стимулювали процеси гліколізу, ЦТК, пентозофосфатного циклу.

6. Внаслідок дії йонів важких металів змінюється співвідношення перетворення [$U^{14}C$] – гліцину у гліоксилову та α -кетоглутарову кислоти в різних тканинах коропа. За дії йонів важких металів відбувається перерозподіл α -кетоглутарової кислоти між досліджуваними тканинами. Йони свинцю, марганцю і цинку пригнічують утворення α -кетоглутарату в м'язах на 24-29%, у печінці – на 3-16%, водночас кількість даного субстрату зростає на 26-42% у зябровому апараті.

7. Серед досліджуваних тканин (білі м'язи, печінка, зябра) найменшого токсичного впливу у риб при морфологічному дослідженні зазнає м'язова тканина. Враховуючи, що для риб контакт «водне середовище – організм» перш за все відбувається через зябра, можна говорити про те, що зябровий апарат риб є достатньо інформативним для визначення у воді природних водойм токсичних речовин.

8. Найбільш токсичними серед використаних токсикантів для організму коропа виявились йони свинцю, міді та фенолу, що виражається у пригніченні активності Ф-1,6-ДФ-зи у печінці риб на 68%, 56% та 79% відповідно.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Коваль В. А. Фруктозо-1,6-дифосфатазна активність в організмі карпа при зимнем голоданні и под влиянием некоторых токсикантов / В. А. Коваль, Б. В. Яковенко // Гидробиол. журн. – 2000. – Т.36, №2 – С. 95–99. *(Визначення активності Ф-1,6-ДФ-зи, написання статті).*

2. Коваль В. О. Глюкозо-6-фосфатазна активність в печінці та білих м'язах коропа в період зимового голодування та під впливом токсикантів / В.О. Коваль, Б.В. Яковенко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія. – 2001. – №4 (15). – С. 51–52. *(Планування експерименту, визначення активності Г-6-Ф-зи, написання статті).*

3. Коваль В. О. Вплив токсикантів на активність лактатдегідрогенази в організмі коропа / В. О. Коваль, Б. В. Яковенко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія. – 2005. – №3 (26). – С. 210–211. *(Планування експерименту, визначення активності ферменту, написання статті).*

4. Коваль В. О. Дія токсикантів різної природи на вміст кетокислот в організмі коропа в період зимового голодування / В. О. Коваль, О. Б. Мехед, Б.В.Яковенко // Рибне господарство. Міжвідомчий тематичний наук. збірник. – Київ, 2009. – №67. – С. – 81–87. *(Визначення вмісту кетокислот в тканинах коропа за дії таких токсикантів як фенол, йони важких металів, аміак, участь у написанні статті).*

5. Коваль В. О. Вплив катіонів важких металів, фенолу і аміаку на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в печінці і м'язах коропа в умовах зимівлі / В. О. Коваль, Б. В. Яковенко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія. – 2010. – №2 (43). – С. 256–259. *(Планування експерименту, визначення активності Г-6-Ф-зи, написання статті).*

6. Коваль В. О. Перетворення гліцину в організмі коропа при токсичному навантаженні важкими металами / В.О. Коваль, Б.В. Яковенко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: «Фізіолого-біохімічні та екосистемні механізми формування токсикорезистентності біологічних систем», присвячений пам'яті член-кореспондента Академії педагогічних наук України, доктора біологічних наук, професора

Олександра Федотовича Явоненка. – 2011. – №2 (47). – С. 193–197. (*Визначення вмісту кетокислот і ферментативної активності, участь у написанні статті*).

7. Мехед О. Б. Зміни активностей ензимів кінцевих реакцій гліюконеогенезу за дії факторів водного середовища у тканинах риб різних видів / О.Б. Мехед, В.О. Коваль, Б.В. Яковенко // Укр. біохім. журн. – 2010, – Т.82, №4 (додаток 2). – С. 282. (*Визначення ферментативної активності Ф-1,6-ДФ-зи та Г-6-Ф-зи у коропа, участь у написанні статті*).

8. Яковенко Б. В. Перетворення гліюксилату в організмі коропа / Б.В. Яковенко, В.О. Коваль, О.Ф. Явоненко // Екологія, охорона природи, екологічна освіта і виховання. Збірник статей, присвячений 80-річчю Чернігівського державного педагогічного інституту ім. Т.Г. Шевченка. – Чернігів. – 1996. – С.28–34. (*Участь у написанні статті*).

9. Коваль В.О. Фруктозо-1,6-дифосфатазна активність в організмі коропа в умовах голодування / В.О. Коваль, Б.В. Яковенко, О.Ф. Явоненко // Тези доповідей VII Український біохімічний з'їзд Ч.П. – Київ. – 1997. – С. 23. (*Визначення активності Ф-1,6-ДФ-зи, написання статті*).

10. Коваль В.А. Влияние аммиака на фруктозо-1,6-дифосфатазную активность в организме карпа в условиях зимнего голодания / Коваль В.А., Б.В. Яковенко // 1 Международная научно-практическая конференция «Экология и молодежь». – Гомель, 1998. – Т. I. Часть 2. – С. 98–99. (*Визначення активності ферменту, написання статті*).

11. Коваль В.О. Активність деяких ферментів вуглеводного обміну в печінці коропа за інтоксикацією фенолом / В.О. Коваль // Матеріали IV Міжнародної наукової конференції «Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах», 9–12 жовтня 2007. – Днепропетровск: ДНУ, 2007. – С. 156–157.

12. Коваль В. А. Изменения биохимических параметров карпа при действии повышенной концентрации аммиака / В.А. Коваль // Матеріали V Міжнародної наукової конференції «Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах», 12–16 жовтня 2009. – Днепропетровск: Лира, 2009. – С. 113-114.

13. Коваль В. О. Мінливість морфологічних показників та вміст основних метаболітів в тканинах дволіток коропа залежно від умов токсикозу / В.О. Коваль, О.Б. Мехед, М.С. Баландіна // X Міжнародні Новорічні біологічні читання. Збірник наукових праць, випуск 10. Під ред. С.В. Гетманцева. – Миколаїв: МНУ імені В.О. Сухомлинського, 2010. С. 196–200.

АНОТАЦІЯ

Коваль В. О. Вплив токсикантів різної хімічної природи на морфологічні та фізіолого-біохімічні показники коропа лускатого в умовах зимівлі. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності: 03.00.10 – іхтіологія. Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2011.

Дисертація присвячена питанням комплексного вивчення впливу абіотичних (зниження температури, зимове голодування) і антропогенних чинників водного середовища (мідь, марганець, цинк, свинець, фенол, аміак) на

морфологічні і фізіолого-біохімічні показники коропа лускатого. Встановлено, що прояв токсичної дії на морфологічні й біохімічні показники коропа лускатого залежить від хімічної природи забрудника. Серед морфологічних показників та екстер'єру в умовах токсикозу, викликаного фенолом, йонами важких металів, аміаком протягом чотирнадцяти діб, кількісні зміни не відбуваються. Однак спостерігаються якісні зміни в органах та тканинах. Найбільші зміни у зовнішньому вигляді печінки, селезінки та зябровому апараті риб викликали йони важких металів такі, як свинець і мідь.

Токсичний вплив аміаку, фенолу, важких металів значною мірою визначається періодом зимового голодування риб, оскільки сезонні чинники змінюють спрямування енергетичної ланки метаболізму риб. В середині зимівлі відповідь організму (у формі змін активності ферментів) на дію токсикантів водного середовища найменші. Це пояснюється тим, що зниження температури води маскує токсичний ефект.

Ключові слова: короп, фенол, йони важких металів, амоніак, зимове голодування, білок, енергетичний обмін, ферменти.

АННОТАЦІЯ

Коваль В. А. Влияние токсикантов разной химической природы на морфологические и физиолого-биохимические показатели карпа чешуйчатого в условиях зимовки. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности: 03.00.10 – ихтиология. – Институт гидробиологии НАН Украины, Киев, 2011.

Диссертация посвящена вопросам комплексного изучения влияния абиотических (снижение температуры, зимнее голодание) и антропогенных факторов водной среды (действие токсикантов различной природы) на морфологические и физиолого-биохимические показатели карпа чешуйчатого.

Установлено, что проявление токсического действия на морфологические и биохимические показатели карпа чешуйчатого зависит от химической природы загрязнителя. Среди морфологических показателей и экстер'єра в условиях токсикоза, вызванного фенолом, ионами тяжелых металлов, аммиака в течение четырнадцати суток количественные изменения не происходят, однако наблюдаются качественные изменения в органах и тканях. Наибольшие изменения во внешнем виде печени, селезенки и жаберного аппарата рыб вызвали ионы тяжелых металлов такие, как: свинец и медь.

Выявлено, что при действии фенола и аммиака в тканях карпа изменяется содержание общего белка. Эти изменения аналогичны влиянию зимнего голодания и подтверждают гипотезу об универсальности механизмов формирования адаптивного ответа на действие стресс-фактора природного или антропогенного происхождения. Так, в печени и жабрах рыб в течение зимовки незначительно снижается общее содержание белка. Под влиянием фенола в жаберной ткани также уменьшается величина этого показателя: в начале зимовки – на 7%; в середине зимовки – на 5% и в конце – на 10% по сравнению с контролем.

В результате действия ионов тяжелых металлов изменяется соотношение преобразования $[U^{14}C]$ – глицина в глиоксиловую и α -кетоглутаровую кислоты в различных тканях карпа. При их действии происходит перераспределение α -кетоглутаровой кислоты между исследуемыми тканями. Ионы свинца, марганца и цинка угнетают образование α -кетоглутарата в мышцах на 24-29%, в печени – на 3-16%, Вместе с тем увеличивается на 26-42% данный субстрат в жаберного аппарата.

Токсическое воздействие аммиака, фенола, тяжелых металлов в большой степени определяется периодом зимнего голодания рыб, поскольку сезонные факторы изменяют направление энергетической звена метаболизма рыб. В середине зимовки ответ организма (в форме изменений активности ферментов) на действие токсикантов водной среды наименьшие. При действии фенола лактатдегидрогеназная активность увеличивается в 1,5 раза, тогда как в феврале – марте разница между опытом и контролем составляет 2,4 раза. Это объясняется тем, что снижение температуры воды маскирует токсический эффект.

Ключевые слова: карп, фенол, ионы тяжелых металлов, аммиак, зимнее голодание, белок, энергетический обмен, ферменты.

SUMMARY

Koval V.O. The influence of toxic agents of different chemical types on the morphological, physiological and biochemical parameters of scaly carp in wintering conditions. – Manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological sciences in the speciality 03.00.10 – Ichthyology. – Institute of Hydrobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2011.

The research deals with the comprehensive study of the influence of abiotic (decrease of temperature, winter starvation) and anthropogenic factors of the aquatic environment (toxic agents of different types) on the morphological, physiological and biochemical parameters of scaly carp.

It was found that the influence of toxic agents on morphological and biochemical parameters of scaly carp depends on the chemical nature of the pollutant. If the toxicosis had been caused by the influence of phenol, ions of heavy metals or ammonia for fourteen days, it did not lead to quantitative changes of the morphological parameters and exterior. However qualitative changes in organs and tissues were observed. The biggest changes in the appearance of liver, spleen and gill apparatus of fish were caused by ions of heavy metals such as lead and copper.

Toxic impact of ammonia, phenol and ions of heavy metals to a large extent was determined by the period of winter starvation of fish, because the seasonal factors change the directions in the energy part of fish metabolism. In the middle of winter the response of the body to the toxic agents in the water environment (in the form of changes in enzyme activity) was the least. It can be explained by masking of the toxic effect under the influence of water temperature decrease.

Key words: carp, phenol, glycine, heavy metals, ammonia, winter starvation, proteins, enzyme.

*Свідоцтво про державну реєстрацію
друкованого засобу масової інформації
серія KB № 17500-6250 ПР від 16.11.2010 р.*

Підписано до друку 03.05.2012 р. Формат 60x90 1/16.
Папір офсетний. Друк на різнографі.
Ум. друк арк. 0,9. Обл.-вид. 0,9.
Наклад 100 прим. Зам. №581.

Редакційно-видавничий відділ ЧНПУ імені Т.Г. Шевченка.
14013, вул. Гетьмана Полуботка, 53, к. 208.
Тел. 65-17-99
Chnpu.tipograf@gmail.com

