

О.Б. Мехед, О.П. Третьак, С.М. Деркач

## ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ КАТАБОЛІЗМУ КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) У КОРОТКОЧАСНІЙ КУЛЬТУРІ КЛІТИН ТА НА РІВНІ ОРГАНІЗМУ РИБ ЗА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ГЕРБИЦИДІВ

Чернігівський національний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка  
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14037 MekhediOlg@mail.ru

Проблема забруднення навколишнього середовища ксенобіотиками надзвичайно актуальна на сьогоднішній час. Особливо це стосується гербіцидів, які мають властивість накопичуватись в живих організмах, що обумовлює важливість виявлення їхнього впливу на біохімічні процеси в живих організмах на різних рівнях організації живої матерії. Внаслідок антропогенного впливу на водойми, риби, як одна з найбільш високоорганізованих груп гідробіонтів, змушені використовувати різноманітні механізми пристосування до змінених умов навколишнього середовища. Актуальність даної роботи полягає в дослідженні впливу гербіцидів безпосередньо на біохімічні процеси, що протікають в культурі клітин. Порівняння змін активності ферментів за дії токсикантів на рівні організму риб до факторів навколишнього середовища та культури клітин дозволить краще зрозуміти механізм адаптації.

Об'єктом дослідження слугував дворічний короп (*Cyprinus carpio L.*), культура клітин білих м'язів, печінки та мозку коропа. Риби були вирощені ВАТ «Чернігіврибхоз» масою 300-350 г. Досліди з вивчення впливу гербіцидів проводили в модельних умовах – 200-літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою, у які рибу розміщували з розрахунку 1 екземпляр на 40 літрів води. Період адаптації складав 3 доби, впливу гербіцидів – 14 діб. Температурний режим води відповідав природному, вміст розчиненого кисню знаходився в межах фізіологічної норми. Токсиканти вносились у вигляді розчинів у кількості, що відповідала 2 гранично допустимим концентраціям (2,4-Д – 0,2 мг/л; зенкор – 0,2 мг/дм<sup>3</sup>; раундап – (0,004 мг/дм<sup>3</sup>)). Короткочасну культуру клітин органів одержували обробкою трипсином та ЕДТА з додаванням глюкози. Досліджували лактатдегідрогеназу (ЛДГ) (Biochemica information, 1975) та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (Г-6-ФДГ) активність у цитоплазматичній фракції, а ізоцитратдегідрогеназу (ІЦДГ) та малатдегідрогеназу (МДГ) активність (Biochemica information, 1975) – у мітохондріальній

фракції. Вміст білку в ферментативних препаратах визначали за методом Лоурі і співавторів (Lowry et al., 1951). Статистична обробка результатів проводилася загальноприйнятими методами за стандартними комп'ютерними програмами, а вірогідне розходження між середніми арифметичними величинами визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при \* -  $P < 0,05$ .

Порівнюючи активність ферментів у культурах клітин різних органів можна зробити висновок про значно нижчі показники активності обох досліджуваних ферментів у печінці ( $0,020 \pm 0,003$  мкмоль NADP/мг білку за хв. для ІЦДГ та  $0,040 \pm 0,007$  мкмоль NAD/мг білку за хв. для МДГ) порівняно з даними показниками в культурі клітин білих м'язів ( $0,038 \pm 0,001$  мкмоль NADP/мг білку за хв. та  $0,076 \pm 0,014$  мкмоль NAD/мг білку за хв. для обох ферментів відповідно). В той же час активність ензимів у культурі клітин, одержаних із мозку, майже не відрізняється від такої у біологічному препараті, виготовленому безпосередньо з нервової тканини коропа і становить  $0,017 \pm 0,001$  мкмоль NADP/мг білку за хв. для ІЦДГ та  $0,018 \pm 0,002$  мкмоль NAD/мг білку за хв. для МДГ.

Вивчаючи вплив гербіцидного токсикозу на активність ізоцитратдегідрогенази культури клітин коропа спостерігали залежність ензиматичної відповіді від хімічної структури гербіциду. Так, за дії 2,4-Д активність ферменту м'язів та печінки взагалі не відмічено. У культурі клітин, одержаній з мозку риб, гербіцид викликає активацію ензиму на 41%. Вплив зенкору проявляється у збільшенні активності ІЦДГ у клітинах усіх тканин, однак у різному ступені: у 11,4, 3,8 та 2,6 разів з печінки, білих м'язів та мозку відповідно. Раундап після трьохгодинної експозиції також викликає активацію ІЦДГ, однак найбільших змін зазнала активність ферменту культури клітин мозку ( $0,079 \pm 0,004$  мкмоль NADP/мг білку за хв. проти  $0,017 \pm 0,001$  мкмоль NADP/мг білку за хв. у фізіологічних умовах).

Зміни активності малатдегідрогенази значною мірою визначаються органом, з якого одержано культуру клітин. Так, у культурі клітин білих м'язів коропа активність МДГ майже не змінюється порівняно з контролем ( $0,084 \pm 0,012$  мкмоль NAD/мг білку за хв. та  $0,081 \pm 0,023$  мкмоль NAD/мг білку за хв. за дії зенкору та раундапу і  $0,076 \pm 0,014$  мкмоль NAD/мг білку за хв. за фізіологічних умов). Виключення становить 2,4-Д – даний гербіцид повністю пригнічує

активність ензиму не лише в клітинах м'язів, а й мозку. В короткочасній культурі клітин печінки гербіциди викликають активацію ензимів. Найбільший вплив за присутності 2,4-Д ( $0,227 \pm 0,045$  мкмоль NAD/мг білку за хв. проти  $0,040 \pm 0,007$  мкмоль NAD/мг білку за хв.). Зенкор та раундап також сприяли активації роботи ферменту в значному ступені ( $0,133 \pm 0,005$  мкмоль NAD/мг білку за хв. та  $0,152 \pm 0,004$  мкмоль NAD/мг білку за хв. відповідно).

В ході експерименту нами було встановлено зміни активності ЛДГ за дії гербіцидного токсикозу. 2,4-Д, незалежно від органу, з якого отримано культуру клітин, викликає активацію ферменту, на відміну від інших гербіцидів. Так, вплив зенкору неоднозначний: у культурі клітин білих м'язів і печінки він гальмує діяльність ферменту, а у мозку, навпаки, викликає активацію ЛДГ у 1,8 разів. Раундап пригнічує активність ферменту: у культурі клітин білих м'язів взагалі не виявлено роботи ЛДГ, у печінці зменшення активності сягає майже 4 разів. Виключення становить мозок: у культурі клітин, одержаній з даного органу, відмічається активація ферменту у 3 рази, порівняно контролем.

Спостерігається повне пригнічення активності Г-6-ФДГ після трьохгодинної експозиції культури клітин печінки і мозку. 2,4-Д викликає активацію ферменту незалежно від органу, з якого отримано короткочасну культуру клітин. Вплив зенкору має виражений тканинний характер. Відомо, що однією з функцій пентозо-фосфатного шляху є утворення відновлених форм  $\text{NADP} + \text{H}^+$  за участю Г-6-ФДГ. Відновлені  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  далі використовуються у біосинтезі жирів. Останні необхідні організму риб не лише як джерело енергії, а також для біосинтезу глюкози, зокрема в період зимового голодування, коли даний моносахарид відсутній у навколишньому середовищі в період зимівлі.

Висновки. Ізольовані клітини коропа для підтримання сталості власних внутрішніх умов, незалежно від змін у навколишньому середовищі, здатні змінювати активність ферментів, що, ймовірно, дозволяє тканині зберігати цілісність і запобігає проліферації клітин, відокремлених від нормального оточення. Досліджувані ферменти змінюють свою активність у відповідь на гербіцидний токсикоз, що формує адаптивну відповідь організму риб. За дії гербіцидів на організм коропа зміни активності ферментів різних шляхів генерування енергії підпорядковуються єдиному механізму адаптації, що забезпечує виживання риб за змінених умов середовища.

**Література**  
Biochemical information.– W.–Germany: Boehringer Manneheim GmbH, Biochemica, 1975.– Bd. 1, 2.– 167 p.

*O. B. Mekhed, O. P. Tretiak, S. M. Derkach*

**CHANGES IN ACTIVITY OF SOME ENZYMES OF CATABOLISM OF CARP (SYPRINUS CARPIO L.) IN SHORT-TERM CELL CULTURE AND AT THE BODY OF FISH FROM THE TOXIC EFFECTS OF HERBICIDES**

*Chernihiv State Pedagogical University named after Taras Shevchenko  
street. Polubotok Hetman, 53, 14037 Chernigov MekhedOlga@mail.ru*

Summary. Investigated the enzyme activity of white muscle, liver and brain cells short kiltury carp: glycolysis, Krebs cycle and pentozofosfatnoho way, and toxic effects at the level of the body of fish (*Cyprinus carpio* L.) in response to the toxic effects of herbicides. Used spectrophotometric methods. It was found that enzymes change their activity in response to herbicide toxicosis, which forms the adaptive response of fish.

*I. С. Митяй<sup>1</sup>, П. Г. Шевченко<sup>1</sup>, Ю. М. Ситник<sup>2</sup>,  
В. С. Майстренко<sup>1</sup>, В. О. Набокін<sup>1</sup>, І. М. Плис<sup>1</sup>*

**ВИДОВИЙ, ВІКОВИЙ, РОЗМІРНО-ВАГОВИЙ СКЛАД  
ІХТІОФАУНИ ІВАНИЦЬКОГО ВОДОСХОВИЩА  
ЧЕРНІГІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Генерала Родимцева, 19, корп. №1, Київ, 03041, Україна, oomit@mail.ru  
<sup>2</sup>Інститут гідробіології НАН України, пр-т. Героїв Сталінграда, 12, Київ,  
04210, Україна*

Іваницьке водосховище розташоване у балці без назви біля с. Іваниця Ічнянського району Чернігівської області. Нижня частина балки має русло, яке впадає в річку Смош з лівого берега. Загальна площа водойми складає 77,5 га. Його розміри: довжина – 3,0 км; ширина середня – 0,26 км (максимальна – 0,62 км, мінімальна – 0,09 км); максимальна глибина – 3,5 м; середня глибина – 2,1 м; об'єм водосховища при НПР – 1600 тис. м<sup>3</sup>. Хімічний склад води Іваницького водосховища у червні 2012 року характеризувався такими даними: мінералізація води становила 521,0 – 574,0 мг/л; твердість становила 4,6–5,3 мг-екв/л. Вміст іонів кальцію – 6,0–8,0 мг/л, магнію – 51,6–58,8 мг/л, сульфатів – 10,0–12,0 мг/л, хлоридів – 16,0–21,3 мг/л ГДК – 0,125–0,172 мг N/л. Середній вміст іонів NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у червні становив 0,0014–0,0056 мг N/л. Цей показник за сезони змінюється мало, дещо зменшуючись у літній період через вегетацію рослинності і збільшуючись восени у зв'язку із відмиранням фітопланктону.