

8. Харитоновна Н.Н. Биологические основы интенсификации прудового рыбоводства. – К., 1984. – 194с
9. Природна кормова база вирощувальних та нагульних ставів і шляхи її покращення. Методичні рекомендації. – К.: УААН, Мін-во риб.госп., 1997. – 96с.
10. Жизнь пресных вод СССР. Под ред. В.И. Жадина. АНССР. М.Л., 1940, 453с.
11. Алевин О.А. Основы гидрохимии. – М.: гидрометеоиздат, 1970. – 444с.
12. И.Ф. Правдин Руководство по изучению рыб. Л., 1939, 246с
13. И.С. Мухачев Биотехника ускоренного выращивания товарной пеляди. ФГУИПП «Юмьень» 2003, 175с
14. Е.В. Егоров, А.А. Ростовцев, Р.М. Цой. Морфология пеляди в разнотипных водоемах Новосибирской области. Биология, биотехника разведения и промышленного выращивания сиговых рыб. Материалы научно-производственного совещания 19-21 декабря 2001 года. Юмьень, 2001
15. И.С. Мухачев Метод однолетнего выращивания товарной пеляди. Рыбоводство в естественных водоемах №2, 2006, С.48-511

Приведены результаты работ по выращиванию сеголеток пеляди в прудовых условиях ОАО "Волыньрыбхоз". Исследованы гидрохимический, термический, гидробиологический (зоопланктон) режимы, а также спектр питания сеголеток пеляди.

There are presented results of works on growing peled underyearlings in pond conditions of JSC "Volynrybgosp". There were studied hydrochemical, thermal, hydrobiological (zooplankton) regimes as well as feeding spectrum of peled underyearlings.

ISBN 966-95535-0-4. Рибне господарство. 2009. Вип. 67.

УДК 597.574.64:577.551.2

В.О.Коваль, ассистент

О.Б.Мехед, канд. біол. наук

Б.В.Яковенко, докт. біол., наук, професор

Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка,

ДЛЯ ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ ПРИРОДИ НА ВМІСТ КЕТОКИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА В ПЕРІОД ЗИМОВОГО ГОЛОДУВАННЯ

*Вивчали вміст α -кетоглутарату, пірувату і оксалоацетату в організмі лускатого коропа (*Syrpinus carpio* L.) при дії токсикантів різної природи (важких металів, аміаку, фенолу і гербіцидів) в період зимового голодування. Відмічені зміни вмісту вказаних метаболітів впродовж зимівлі, що пояснюється інгібуванням реакцій циклу трикарбонів: кислот і гліколітичних процесів. При дії токсикантів органічної природи спостерігали зниження кількості вказаних метаболітів в досліджуваних тканинах, обумовлене енергетичними процесами. Під впливом важких металів і аміаку відмічено збільшення змісту вказаних метаболітів.*

У зимовий період інтенсивність метаболічних процесів у більшості риб, включно і коропа, уповільнюються, зменшуються потреби в генеруванні енергії. Однак основні фізіологічні функції організму змінюються з такою інтенсивністю, яка достатньо забезпечує енергією системи підтримання гомеостазу. Сорвачов К.Ф. визначив три стадії процесу ферментативної адаптації до процесу голодування, яка викликає різку перебудову метаболічних шляхів внаслідок переходу на ендогенне живлення [1]. Відомо, що зміни вмісту метаболітів спостерігаються не тільки при голодуванні, а і при

несприятливих умовах водного середовища - дії токсичних речовин. Зокрема, коропа під впливом іонів мангану зменшується вміст замісних і неамінокислот, а також сумарна їх кількість [2]. Аналогічні зміни, щодо амінокислот, спостерігали також за дії фенолу [3], амоніаку [4], гербіцидів [5]. Крім у фаховій літературі є достатньо інформації про вплив іонів важких металів (зокрема окремі ланки обміну речовин у риб [6, 7]. В той же час дані про вміст кетокислот в організмі коропа за дії токсичних речовин обмежені [6, 8]. Як відомо, ці сполуки є резервом для синтезу білків, нуклеїнових кислот, а також беруть участь в субстратному забезпеченні ліпогенезу, глюконеогенезу, використовують енергетичному забезпеченні організму. Тому метою нашої роботи було дослідити вмісту кетокислот (α -кетоглутарової, щавлево-оцтової і пірвіноградної кислот) в організмі коропа при дії токсикантів різної природи в період зимового голодування.

Матеріали і методи. Дослідження проводились в лабораторних умовах в двірчках коропа лускатого (*Surginus carpio L.*), вагою 200-250 г. Риб тримали в літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою, рибу розміщували по розрахунку 1 екземпляр на 40 дм³ води, в умовах стандартного газового і гідрохімічного режимів. Температуру в акваріумах підтримували близькою до природної залежно від пори року. Під час експерименту риб не годували.

Вивчався вплив амоніаку, фенолу, іонів мангану, цинку, міді, свинцю та гербіцидів на організм коропа лускатого у концентрації, яка відповідає 2 гранично допустимим концентраціям (ГДК). Умови інтоксикації моделювали шляхом внесення до води акваріумів, де знаходилися піддослідні риби, буферної суміші $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$, фенолу; відповідних солей $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ розрахованих кількостей гербіцидів – амонійної солі 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-ДА) та зенкору. Період аклімації становив 14 діб. Для дослідження використовували тканини білих м'язів спини, передньої долі печінки. Кетокислоти визначали кількісно гідразинним методом, використовуючи тонкошарову хроматографію на пластинках «Silufol» UV-VIS 254, як описано в роботі І.В.Лисняк [10]. Усі результати були оброблені статистично за Ойвіним І.А. [10]. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при $P < 0,05$.

Результати досліджень. Оскільки кетокислоти відіграють надзвичайно важливу роль в організмі риб у забезпеченні багатьох метаболічних процесів, можна стверджувати, що динаміка кетокислот в тканинах відображає загальну тенденцію метаболізму в організмі. В результаті проведених досліджень встановлено, що найбільший вміст α -кетоглутарату, пірвіноградної, щавлево-оцтової кислот відмічено в печінці риб. Отримані данні співпадають з літературними джерелами щодо вмісту кетокислот [6, 11]. Білі м'язи коропа містять меншу кількість досліджуваних метаболітів. Протягом періоду зимового голодування вміст кетокислот в тканинах змінюється наступним чином (табл.1). Так в печінці коропа у жовтні місяці коли риби перестають житися, вміст α -кетоглутарату склав $3,92 \pm 0,56$ мкмоль/100 мг тканини, а в січні (середина зимівлі) він на 60% менший ніж на початку зимівлі. В білих м'язах - квітні вміст цієї кетокислоти знову зростає і складає 83%.

1. Динаміка вмісту кетокислот в організмі коропа в зимовий період (M+m; n=5).

	Тканина	Жовтень	Січень	Березень
α-кетоглутарат мкмоль/100г тканини	Білі м'язи	2,25±0,36	0,98±0,10*	2,02±0,25
	Печінка	3,92±0,56	1,52±0,13*	3,24±0,48
Піруват мкмоль/100г тканини	Білі м'язи	3,21±0,16	1,22±0,15*	1,98±0,18*
	Печінка	4,12±0,22	1,95±0,15*	2,64±0,26*
Оксалоацетат мкмоль/1г тканини	Білі м'язи	0,43±0,06	0,28±0,02*	0,33±0,03
	Печінка	1,04±0,12	0,36±0,04*	0,52±0,04*

Примітка. * - відмінності вірогідні відносно показників початку зимівлі.

В печінці дворічок коропа при дії низьких температур вміст піровиноградної кислоти також змінюється. Ці зміни мають подібні тенденції, щодо вмісту α-кетоглутарату. Так на початку зимівлі вміст пірувату в печінці складав 4,12±0,22 мкмоль/100г тканини, а в січні він зменшується вдвічі (на 53%). Навесні вміст пірувату збільшується і складає 64% від початку зимівлі. Серед досліджуваних кетокислот найбільший вміст був встановлений для оксалоацетату (табл.1). На початку зимового голодування він склав 1,04±0,12 мкмоль/1г тканини, у січні 0,36±0,04 мкмоль/1г тканини, а в кінці - 0,52±0,04 мкмоль/1г тканини, що складає 50% від початкового показника. Аналогічна картина спостерігається і в м'язовій тканині коропа під час зимівлі. Вміст усіх досліджуваних кетокислот в середині зимівлі зменшувався: α-кетоглутарату - на 56%, пірувату - на 62%, і оксалоацетату - на 35%. Навесні спостерігається поступове збільшення вміст кетокислот. Можна зробити висновок, що в період зимового голодування, кол температура водного середовища найнижча, в організмі коропа уповільнюються реакції циклу трикарбонових кислот та гліколізу. В процесі окислювального декарбоксилювання α-кетоглутарової кислоти утворюється бурштинова кислота, яка зв'язується з КоА вигляді сукциніл-КоА. Якщо реакція окислювального декарбоксилювання пірувату ланцюгом, поєднуючим гліколіз з циклом трикарбонових кислот, то реакція окислювального декарбоксилювання кетоглутарату - ланцюг відповідно циклу Кребса зміни якого порушують енергетичний обмін клітини. Відомо, що у риб при дії низьких температур обмін речовин і рухливі реакції в значній мірі уповільнюються, зменшується потреба у кисні [11].

В дослідженнях, проведених в різні періоди зимового голодування, за токсичних речовин було встановлено (рис.1-4), що токсиканти по-різному впливають на вміст кетокислот. Так, всі метали, які використовувались в експерименті збільшували вміст α-кетоглутарату, як в печінці, так і в білих м'язах (рис.1). З іонами мангану в печінці збільшується вміст α-кетоглутарової кислоти на 44%, в м'язовій тканині на 26%. Аналогічні зміни спостерігались за дії міді, свинцю і цинку. Особливої уваги заслуговує той факт, що найбільші зміни спостерігаються в тканині печінки, це можна пояснити тим, що печінка є органом знешкодження токсичних речовин. На відміну від вищезазначених токсикантів, іони цинку в м'язовій тканині сприяють зростанню вмісту α-кетоглутарату на 70%, а в печінці всього на 22%.

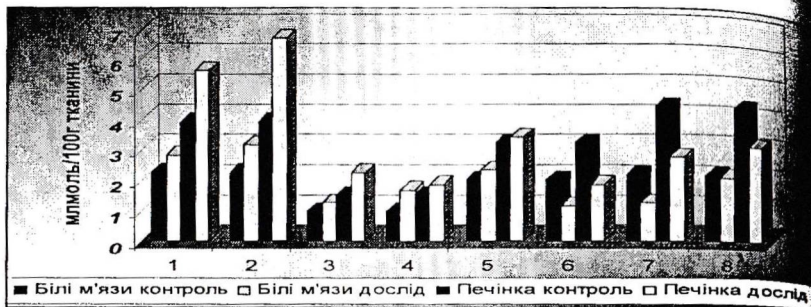


Рис. 1. Вміст α -кетоглутарової кислоти в тканинах коропа за дії токсикантів. $M \pm m$, $n=5$. 1-манган; 2-мідь; 3-свинець; 4-цинк; 5-амоніак; 6-фенол; 7-2,4-ДА; 8-зенкор.

Під дією амоніаку, який містився у водному середовищі, вміст α -кетоглутарової кислоти практично не змінюється. Вплив речовин органічного походження (фенол, гербіциди) якісно відрізняється від дії токсикантів неорганічної природи (ВМ, амоніак). Так, фенол у кількості 2ГДК зменшує вміст α -кетоглутарату і у білих м'язах і в печінці майже вдвічі ($P < 0,05$). Подібний вплив щодо вмісту α -кетоглутарової кислоти спостерігається в досліджуваних тканинах і за впливу гербіцидів, причому 2,4-ДА викликає помітніші відмінності кількості даного метаболіту на 100 г тканини порівняно із зенкором. Так, за дії 2,4-ДА у білих м'язах вміст α -кетоглутарату знизився у 1,7 рази і становив $1,27 \pm 0,16$ мкмоль/ 100 г тканини, а у печінці – у 1,7 рази, в той час як зенкор спричинив зміни відповідного показника лише на 3% м'язевій тканині та на 29% у печінці.

Аналіз одержаного матеріалу щодо вмісту пірвиноградної кислоти показав, що дія іонів мангану і цинку в тканинах коропа викликає збільшення вмісту пірватату (рис.2), а іони міді і свинцю мають протилежну дію. Так за дії іонів свинцю вміст пірватату знижувався у м'язах - на 40% ($P < 0,02$), а в печінці 55% ($P < 0,001$).



Рис. 2. Вміст пірватату в тканинах коропа за дії токсичних речовин. $M \pm m$, $n=5$. 1 – манган; 2 – мідь; 3 – свинець; 4 – цинк; 5 – амоніак; 6 – фенол.

Амоніак підвищує вміст даної кетокислоти, подібно до іонів мангану і цинку, у м'язовій тканині на 24%, в печінці на 36% ($P < 0,05$). Фенол, як і в попередньому

дослідженні, знижує вміст пірвиноградної кислоти (м'язи - дослід - $1,16 \pm 0,10$ мкмоль/100 г тканини, контроль - $1,98 \pm 0,18$ мкмоль/100г тканини; печінка - дослід - $1,28 \pm 0,08$ мкмоль/100г тканини, контроль - $2,64 \pm 0,26$ мкмоль/100г тканини) як наслідок розбалансування метаболічних процесів та зміни активності відповідних ферментів [12]. Особливої уваги заслуговує вплив гербіцидного токсикозу на вміст пірвату у досліджуваних тканинах дворічок коропа (рис. 3).

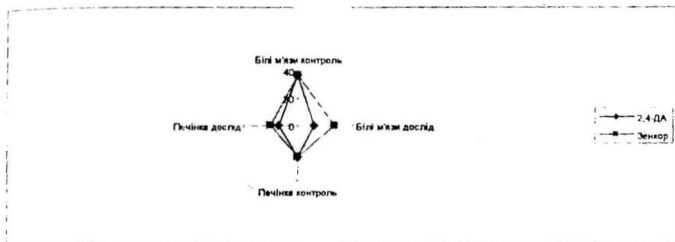


рис. 3. Вміст пірвиноградної кислоти в тканинах коропа за дії гербіцидів. $M \pm m$, $n=5$

Як видно з рисунка, зберігається загальна тенденція до зменшення вмісту даного метаболіту за дії токсичних речовин органічної природи, однак дія 2,4-ДА викликає значне зниження даного показника у білих м'язах – у 3 рази ($P < 0,001$) і відповідає $12,08 \pm 0,93$ мкмоль/100г тканини, в той час за дії зенкору в тій же тканині показник зменшується до $27,04 \pm 4,11$ мкмоль/100г тканини порівняно з $36,5 \pm 1,35$ мкмоль/100г тканини у риб, що знаходились у фізіологічних умовах (контроль). Аналогічна картина спостерігається в печінці коропа: пригнічення показника у 1,7 рази за дії 2,4-Д та лише на 13% при дії зенкору, що можна пояснити активацією відповідних ферментів в результаті токсикозу [8].

Вміст оксалоацетату в печінці коропа при дії іонів мангану, свинцю, цинку і амоніаку збільшується на 49%, 44%, 41% і 15% відповідно (рис. 4).



рис. 4. Вміст оксалоацетату в тканинах коропа за дії токсикантів. $M \pm m$, $n=5$.
1–манган; 2–мідь; 3–свинець; 4–цинк; 5–амоніак; 6–фенол; 7-2,4-ДА; 8–зенкор.

Іони міді (печінка і м'язи) і свинцю (м'язи) зменшують вміст оксалоацетату. За дії міді показник вмісту в тканинах печінки змінюється – контроль $1,04 \pm 0,12$ мкмоль/1г тканини, дослід - $0,86 \pm 0,06$ мкмоль/1г тканини; у м'язах – контроль $0,43 \pm 0,06$

мкмоль/1г тканини, дослід - $0,32 \pm 0,03$ мкмоль/1г тканини. Усі токсиканти органічного походження пригнічують вміст оксалоацетату. Так фенол у м'язовій тканині цей показник на 30% ($P < 0,02$), а у печінці на 37% ($P < 0,02$). В той же час досліджувані гербіциди несуттєво зменшують рівень оксалоацетату в білих (30% - 2,4-ДА та 24% - зенкор, відмінності показників невірні). У печінці викликає значне зниження вмісту оксалоацетату - до $0,63 \pm 0,04$ мкмоль/1г порівняно з контролем - $0,96 \pm 0,12$ мкмоль/1г тканини ($P < 0,05$).

Таким чином, при гербіцидному навантаженні спостерігається зменшення кількості всіх досліджуваних метаболітів в тканинах коропа лускатого (рис. 1), що може бути свідченням посилення катаболічних процесів або їх використання адаптивних перебудов метаболізму та структурних компонентів клітин. Вміст α -кетоглутарату зменшується несуттєво, однак, порівнюючи дію гербіцидів між собою можна зробити висновок, що 2,4-Д спричиняє більші зміни у всіх досліджуваних тканинах, ніж зенкор. Результати експерименту доводять, що даний показник дворічного коропа виявився менш чутливим до токсичної дії гербіцидів порівняно з цюгорічкою [8]. Вірогідні відмінності у вмісті метаболіту виявлено лише під дією 2,4-Д у білих м'язах. Аналогічно α -кетоглутарату, спостерігається зниження оксалоацетату в усіх досліджуваних тканинах за дії токсикантів органічного походження (рис.4). Вірогідні відмінності у вмісті оксалоацетату спостерігаються у печінці під дією 2,4-Д. Таким чином, в результаті кількісного визначення α -кетоглутарату, пірувату та оксалоацетату в тканинах коропа можна зробити висновок про зниження кількості вищезазначених речовин в результаті пестицидного навантаження (2,4-Д при цьому має більший вплив на зміну рівня метаболітів порівняно з зенкором). Зменшення вмісту кетокислот є свідченням їх мобілізації як резервних енергетичних ресурсів організму. В той же час спостерігається збільшення вмісту α -кетоглутарату в тканинах риб, що знаходились в умовах токсикозу важкими металами. Зростає рівень даного метаболіту можна пояснити посиленням переамінування глутамату оксалоацетатом, що підтверджується незначним зниженням вмісту останнього за дії іонів міді та свинцю.

Висновки. В організмі риб, як пойкилотермних тварин, фізіолого-біохімічний статус залежить від сезонних коливань температури. В результаті досліджень встановлено, що в залежності від періоду зимового голодування і температури середовища водного середовища гомеостаз риб підтримується різними шляхами. Про це свідчать зниження пірувату, оксалоацетату, α -кетоглутарату в печінці риб протягом зимівлі. На будь-який вплив факторів середовища, абіотичних чи антропогенних, організм формує реакцію - відповідь у вигляді функціональних та біохімічних змін, які направлені на підтримання гомеостазу або енантіостазу. Дія токсичних речовин різноманітних за своєю природою викликають зміни вмісту кетокислот. Неорганічні токсиканти (ВМ) викликають збільшення кількості α -кетоглутарату, а токсиканти органічного походження (фенол, гербіциди) спричиняють зменшення вмісту досліджуваних кетокислот.

Бібліографічний список

1. Сорвачев К.Ф. Проблемы регулирования и адаптивного влияния пищи на биохимические системы организма рыб. / 5 Всесоюзная конференция по экологическому

- физиологии и биохимии рыб. Тезисы докладов. Ч.1. - К.: Наукова думка, 1982. - С. 156 - 157.
2. Курант В.З. Роль вільних амінокислот в атапаційно-компенсаторних процесах в організмі риби за дії іонів важких металів // Наукові записки Тернопільського педагогічного університету. Серія: біологія. Тернопіль, 2001. - №3 (14) - С. 205 - 209.
 3. Кривошиша В.В. Вплив стрес-факторів водного середовища на адаптивні функції нервової системи у риби. Автореф.дис. ... канд.биол.наук. - Київ, 2001. - 18 с.
 4. Грубінко В.В. Адаптивні реакції риби до дії аміаку водного середовища: Автореф.дис. ... докт.біол.наук. Київ, 1995. - 44с.
 5. Жиденко А. А., Мехед О. Б., Близнюк Е. В. Влияние пестицидов на качественный и количественный состав аминокислот в тканях карпа // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: Материалы Междунар. научн. конф. - Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2005. - С. 70 - 72.
 6. Арсан В.О. Енергозабезпечення організму коропа при адаптації до змін концентрацій іонів важких металів у водному середовищі: Автореф.дис. ... канд.біол.наук. Київ, 2004. - 18с.
 7. Леус Ю.В., Арсан В.О., Грубінко В.В. Прооксидантно-антиоксидантний статус організму карпа при дії іонів міді, марганця, свинцю і цинку // ДАН України, 1998. - № 7. - С. 155 - 159.
 8. Мехед О. Б., Яковенко Б. В. Вплив гербіцидного забруднення водного середовища на вміст малату, оксалоацетату, лактату, пірувату і активність ЛДГ та МДГ в тканинах коропа // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія, 2001. - № 3 (26). - С. 302 - 304.
 9. Лисняк И.А. Определение α -кетокислот при разделении в тонком слое силикагеля // Укр. биохим. журн. -1981. 53,1. - С.111-113.
 10. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол.физиол.и экспер.терапия. - 1960. - № 4 - С. 76 - 85.
 11. Арсан О. М. Особенности функционирования основных механизмов энергообеспечения процессов акклимации рыб к абиотическим факторам водной среды. Автореферат дисс... докт. биол. наук. М., 1987. - 37 с.
 12. В.О. Коваль, Б.В.Яковенко. Вплив токсикантів на активність лактатдегідрогенази в організмі коропа. // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроєкологія - 2005. -№3 (26). - С. 210-211.

Изучали содержание α -кетоглутарата, пирувата и оксалоацетата в организме карпа чешуйчатого (Cyprinus carpio L.) при воздействии токсикантов разной природы (тяжелых металлов, аммиака, фенола и гербицидов) в период зимнего голодания. Отмечены изменения содержания указанных метаболитов на протяжении зимовки, что объясняется ингибированием реакций цикла трикарбоновых кислот и гликолитических процессов. При действии токсикантов органической природы наблюдали снижение количества указанных метаболитов в исследуемых тканях, обусловленное энергетическими процессами. Под воздействием тяжелых металлов и аммиака отмечено увеличение содержания указанных метаболитов.

The concentration of α -ketoglutarate, pyruvate and oxaloacetate in the body of a scaly carp (Cyprinus carpio L.) under the influence of toxic agents of different nature (heavy metals, ammonia, phenol and herbicides) during winter starvation was studied. Changes of concentration of metabolites throughout wintering were registered due to inhibition of reactions of tricarboxylic acids and of glycolytic processes. Under the influence of organic toxic agents the decrease of levels of specified metabolites was observed in examined tissues. During toxicosis transformation of keto acids related to energy processes was more intensive. Under the influence of heavy metals and ammonia the increase in the concentration of specified metabolites was registered.