

АНОТАЦІЯ

Кофонов К. Морфофізіологічний статус молоді коропових риб за дії підвищених концентрацій біогенних сполук у воді

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 «Біологія») – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2021.

Метою роботи є визначення життєстійкості, основних закономірностей зміни морфофізіологічного статусу та межі адаптивних можливостей молоді коропових риб за дії підвищеної концентрації амонійного азоту і фосфору фосфатів у воді.

Об'єктом дослідження є життєстійкість, морфофізіологічний статус й межі адаптивних можливостей молоді коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L), карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* B), плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L) і краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* L) за дії підвищених концентрацій сполук азоту та фосфору.

У роботі розглянуто основні закономірності зміни життєстійкості, морфофізіологічного та біохімічного стану молоді коропових видів риб за дії підвищених концентрацій амонійного азоту та фосфору фосфатів у експериментальних та природних умовах. Виокремлено найбільш значимі та показові морфологічні, фізіологічні, біохімічні показники, які використовуються у сучасних іхтіологічних та біохімічних дослідженнях риб.

Для визначення життєстійкості та змін фізіологічного статусу молоді коропових видів риб було проведено гострі та хронічні токсикологічні експерименти. Об'єктами досліджень були цьоголітки карася сріблястого, коропа звичайного та краснопірки звичайної. Токсикантами слугували хлорид амонію та суміш фосфорних солей калію та натрію у гострих дослідах та хлорид амонію та монофосфат калію у хронічних експериментах. Встановлено, що хлорид амонію виявляє ознаки отрути нервово-паралітичної дії, а ортофосфати володіють низькою токсичністю та не є токсикантами прямої дії.

На основі даних гострих токсикологічних досліджень встановлено, що молодь корокових видів за ступенем стійкості до токсичної дії можна розподілити наступним чином: карась сріблястий > краснопірка звичайна > короп звичайний (амонійний азот) та короп звичайний > карась сріблястий (фосфор фосфатів). Встановлено 96 год. летальні концентрації, для молоді коропа та карася LC_{50} становить 29,2 та 34,3 мг N/дм³ для амонійного азоту відповідно та від 366,3 і 822,6 мг P/дм³ для ортофосфатів. Фосфати виявляли низьку токсичність для риб.

В експериментальних умовах за хронічного впливу амонійного азоту в концентрації до 15 мг N/дм³ вміст кортизолу, тироксину та трийодтироніну у тканинах коропа зростав у 5,4–8,4 рази, а у молоді карася збільшувався лише вміст кортизолу у 1,4 рази порівняно до контролю. У всіх трьох досліджених видів риб посилювався гліколіз, а в краснопірки також і аеробне дихання. Також відмічене суттєве зростання активності ЛФ – у 2,7–9,0 разів у молоді карася; на 40–47% у краснопірки та коропа. За цих умов збільшувалася активність ГДГ на 92% у карася та у 2–4 рази у краснопірки, а у коропа вона, навпаки, знижувалася на 81–83%.

За хронічного впливу фосфору фосфатів у експериментальних умовах до 5,0 мг P/дм³ у молоді риб спостерігалось зниження активності анаеробних та аеробних процесів енергозабезпечення. Активності ЛФ збільшувалася у молоді коропа у 3,0–3,8 рази, у карася та краснопірки вона дещо зменшувалась. Активність ГДГ у карася та коропа зростала у 2 рази, а у краснопірки дещо знижувалася.

Виявлено видоспецифічні особливості зміни морфологічного статусу молоді карася, краснопірки та плітки у природних водоймах, забруднених амонійним азотом. Молодь карася та краснопірки мала у 11,0 та 3,1 рази більшу масу тіла, аніж риби з контрольних водойм, а також більші довжини та висоти тіла і довжину голови. Аналіз морфометричних показників риб виявив для молоді карася достовірний позитивний кореляційний зв'язок між концентрацією амонійного азоту та окремими показниками (заорбітальна відстань, постдорсальна відстань та довжина хвостового стебла). Плітка найбільш вразлива до дії амонійного азоту, темпи її масового та лінійного росту знижувались, на відміну від інших видів.

Під дією фосфору фосфатів відмічено збільшення у молоді плітки маси тіла у 2,7 рази, довжини тіла, тулуба і голови й висота тіла на 19–61%. Знайдений позитивний кореляційний зв'язок між довжиною риби, заорбітальною відстанню, довжиною голови, найменшою висотою тіла, довжинами грудних та черевних плавців молоді плітки та концентрацією фосфору фосфатів у водоймі. Для молоді карася та коропа із водойм з підвищеною концентрацією фосфору фосфатів достовірних відмінностей у морфологічних показниках не було відмічено.

Детально розглянуто зміни вмісту деяких кортикостероїдних та тиреоїдних гормонів, активність ферментів енергетичного обміну (ЛДГ та СДГ), фосфорного (ЛФ) та азотного обміну (ГДГ), вмісту енергетичних субстратів в тканинах риб за підвищених концентрацій амонійного азоту та фосфору фосфатів в природніх умовах. Показано, що підвищені концентрації амонійного азоту викликають адаптивну реакцію молоді риб на гормональному рівні: вміст кортизолу, в тканинах карася сріблястого знижувався до 2,0 разів, цей вид був найбільш стійким до таких умов. Помірну стійкість встановлено для краснопірки, у неї підвищувався вміст кортизолу до 3,7 разів та тироксину на 14–20%, знижувався вміст трийодтироніну до 74%. Найбільш вразливою до дії підвищених концентрацій амонійного азоту виявилася плітка, її гормональний статус характеризувався зниженням вмісту кортизолу та збільшенням вмісту тиреоїдних гормонів.

За впливу надмірних концентрацій амонійного азоту активність ЛДГ та ГДГ у зябрах та м'язах молоді карася зростала у 1,8–2,3 рази та на 22–73% відповідно, активність СДГ, ЛФ збільшувалися лише в зябрах. У краснопірки активність ЛДГ та ГДГ зменшувалися до 83% при істотному зростанні активності СДГ та ЛФ до декількох разів. У молоді плітки активність ЛДГ, ЛФ, ГДГ істотно зменшувалися до 87%, активність СДГ зростала до 2,6 разів.

За дії підвищеної концентрації фосфору фосфатів у водоймах найбільш стійкою виявилася молодь коропа. Вміст кортизолу, Т3 та Т4 в зябрах зростав у 2,3, 5,6 та 9,6 разів відповідно порівняно до контролю. Карась характеризувався помірною витривалістю до дії цього чинника – вміст кортизолу збільшувався до 7,7 разів. Найбільш вразливою до дії фосфору фосфатів виявилася молодь плітки, у

якої відмічено зниження вмісту кортизолу, проте збільшення вмісту тироксину та трийодтироніну.

Активність ЛДГ, СДГ, ЛФ та ГДГ у зябрах коропа збільшувалася; у молоді карася істотно зростала активність ЛДГ та СДГ до 4,6 разів, незначно підвищувалася активність ЛФ та знижувалася активність ГДГ; а у плітки спостерігалось істотне підвищення активності ЛДГ та СДГ до 2,9 разів у зябрах, проте зменшувалась активність ЛФ та ГДГ до 88%.

Показано, що в процесі адаптації до надмірних концентрацій амонійного азоту та фосфору фосфатів молодь коропових видів риб використовувала всі 3 енергетичні субстрати. Першочергово утилізувався глікоген, пізніше чи разом з ним ліпіди. В останню чергу, на енергетичне забезпечення адаптивних реакцій на забруднення, молодь коропових видів риб використовувала білки.

На підставі проведених досліджень встановлені летальні концентрації амонійного азоту та фосфору фосфатів для коропових видів риб. Їх життєстійкість за підвищених концентрацій цих сполук істотно відрізнялась. Визначено видоспецифічні фізіолого-біохімічні та адаптивні реакції у відповідь на несприятливі чинники молоді коропа, карася, краснопірки, плітки.

На підставі отриманих результатів можна зазначити, що досліджені деякі біохімічні показники, зокрема вміст гормонів та активність ЛДГ та ЛФ, можна використовувати для біомоніторингу та екологічної індикації стану водних об'єктів. Це, в свою чергу, розширює та доповнює існуючу інформацію стосовно адаптивних реакцій організму коропових видів риб до змін екологічних умов середовища існування на морфологічному, гормональному, ферментативному та біохімічному рівнях.

Ключові слова: молодь коропових риб, біогенні сполуки, азот амонійний, фосфор фосфатів, морфофізіологічний статус, гормони, енергоємні сполуки, активність ферментів.

SUMMARY

Kofonov K. Morphophysiological status of juvenile cyprinids under the influence of increased content of biogenic compounds in water

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 "Biology" (09 "Biology") - Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The work aims to determine the viability, the main regularities of changes in the morphophysiological status, and the limits of the adaptive capabilities of juvenile cyprinids under the influence of an increased concentration of ammonium nitrogen and phosphorus phosphates in water.

The object of the study is the viability, morphophysiological status, and the boundaries of the adaptive capabilities of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.), crucian carp (*Carassius auratus gibelio* B.), common roach (*Rutilus rutilus* L.), and common rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) under the influence of increased nitrogen compounds and phosphorus.

The paper considers the main regularities of changes in juvenile cyprinids' viability, morpho-physiological and biochemical state under the influence of increased concentrations of ammonium nitrogen and phosphorus phosphates under experimental and natural conditions. Our team identified the most significant and indicative morphological, physiological, and biochemical indicators used in modern ichthyological and biochemical studies.

The results of acute and chronic toxicological experiments give us information about the survival level and changes in the physiological status of juvenile cyprinid fish species. The objects of research were fingerling of crucian carp, common carp, and common rudd. Toxicants were ammonium chloride and a mixture of phosphorus salts of potassium and sodium in acute experiments and ammonium chloride and potassium monophosphate in chronic experiments. Therefore, we could consider that ammonium chloride exhibits signs of a nerve agent, and orthophosphates have low toxicity and are non-direct toxicants.

Based on the data of acute toxicological studies, we established that juveniles of cyprinids, according to the degree of resistance to toxic effects, can be divided as follows: goldfish > rudd > carp (ammonium nitrogen) and carp > goldfish (phosphorus phosphates). Also, our team were established 96-h lethal concentrations for juvenile carp, and crucian carp LC_{50} is 29.2 and 34.3 mg N/dm³ for ammonium nitrogen, respectively, and from 366.3 and 822.6 mg P / dm³ for orthophosphates. On the other hand, phosphates showed low toxicity to fish.

During the chronic experiments, we recorded increased cortisol, thyroxine, and triiodothyronine content by 5.4-8.4 times caused by ammonia nitrogen at a concentration of up to 15 mg N/dm³ in carp tissues. The hormones level is increasingly affected by the chronic effect of ammonium nitrogen at a concentration of up to 15 mg N/dm³. In juvenile crucian carp tissues, the cortisol content increased by 1.4 times compared to control. In tissues of all three studied fish species, glycolysis increased, and in rudd also aerobic respiration. There was also a significant increase in the ALP activity - 2.7-9.0 times among young crucian carp; 40-47% in rudd and carp. These conditions caused the increased activity of LDH by 92% in crucian carp and 2-4 times in rudd, while in carp, it, on the contrary, decreased by 81-83%.

We observed that the chronic effect of phosphorus phosphates up to 5.0 mg P/dm³ at experimental conditions in the juvenile fish decreased the activity of anaerobic and aerobic energy supply processes. ALP activity increased in juvenile carp 3.0-3.8 times, but in tissues of crucian carp and rudd, it slightly decreased. The activity of GDH in crucian carp and carp increased 2.0 times, and in rudd, it slightly decreased.

Our investigations also discovered species-specific changes in the morphological status of juvenile crucian carp, rudd and roach in natural reservoirs polluted with ammonium nitrogen. Juveniles of crucian carp and rudd had 11.0- and 3.1-times greater body weight than fish from control reservoirs and greater body lengths, heights, and head lengths. Analysis of the morphometric parameters of fish exposed a significant positive correlation between the concentration of ammonium nitrogen and individual parameters (postorbital distance, post dorsal distance, and length of the caudal) for juvenile crucian carp. Roach turned out to be the most vulnerable to the action of ammonium nitrogen. As

a result, the common roach temps of mass and linear growths decreased compared to other species.

Under the influence of phosphorus phosphates, we found increasing in body mass of common roach juveniles by 2.7 times and rising in the absolute fish length, body height and length, head length at range 19-61%. The following result of the investigation is a positive correlation between the length of the nose, orbital distance, the length of the head, the smallest body height, the lengths of the pectoral and ventral fins of the juvenile roach, and the concentration of phosphorus-phosphate in the water body. Furthermore, we have not observed any significant differences in morphological parameters for juvenile crucian carp and common carp from water bodies with an increased concentration of phosphorus phosphates.

Changes in the content of some GCS and thyroid hormones, the activity of enzymes of energy metabolism (LDH and SDH), phosphorus (ALP) and nitrogen metabolism (GDH), the content of energy substrates in fish tissues at increased concentrations of ammonium nitrogen and phosphorus phosphates in natural conditions are considered in detail. Biochemical analyses showed that increased concentrations of ammonium nitrogen cause an adaptive response of juvenile fish at the hormonal level: the content of cortisol in the tissues of the crucian carp decreased up to 2 times, which means that this species was the most resistant to such condition. On the other hand, moderate rate resistance of common rudd was found, typified as the content of cortisol increased by 3.7 times and thyroxine by 14-20%. However, the content of triiodothyronine in common rudd juvenile tissues was reduced to 74%. The most resistless to increased concentrations of ammonium nitrogen was the common roach. Its hormonal status was characterized by a decrease in cortisol content and an increase in the content of thyroid hormones.

Under the influence of extreme concentrations of ammonium nitrogen, LDH and GDH in the gills and muscles of young crucian carp increased by 1.8-2.3 times and by 22-73%, respectively, the activity of SDH and ALP increased only in the gills. In common rudd tissues, the activity of LDH and GDH decreased to 83%, with a significant elevate in the activity of SDH and ALP up to several times. In juvenile roach, LDH, ALP, GDH activity significantly decreased to 87%, the activity of SDH increased up to 2.6 times.

Under the influence of an increased concentration of phosphorus phosphates in water bodies, carp juveniles turned out to be the most resistant. The content of cortisol, T3 and T4 in the gills of carp increased 2.3, 5.6, and 9.6 times, respectively, compared with the control level. Crucian carp are characterized as moderate resistance to this factor - the content of cortisol in its tissues increased up to 7.7 times. The weakest to the action of phosphorus phosphates was the common roach juveniles. We noticed that cortisol content was decreased at common roach tissues. On the other hand, we found the increased content of thyroxine and triiodothyronine in common roach tissues.

The activity of LDH, SDH, ALP and GDH in the gills of carp increased. In the tissues of juvenile crucian carp, LDH and SDH activity significantly increased by 4.6 times, the activity of ALP increased slightly, and the activity of GDH decreased; while in the common roach gills, was observed a significant increase at LDH and SDH activity up to 2.9 times, but the activity of ALP and GDH decreased to 88%.

The investigation conducted that young cyprinid species fish used all three energy substrates in the process of adaptation to excessive concentrations of ammonium nitrogen and phosphorus phosphates. Initially, glycogen is utilized, later or simultaneously with its lipids. Last, of all, juveniles of cyprinid fishes used proteins for the energy supply of adaptive responses to pollution.

One of the results of our teamwork was lethal concentrations of ammonium nitrogen and phosphorus phosphates for cyprinid fish species. However, their viability at elevated concentrations of these compounds differed significantly. Also, we discovered species-specific physiological, biochemical and adaptive reactions in response to harmful environmental factors in juvenile carp, crucian carp, common rudd and roach.

Centred on the findings, we could note that some biochemical indicators, such as the content of hormones and the activity of LDH and ALP, are potentially helpful for biomonitoring and indicate different water bodies' ecological states. Also, the work, in turn, expands and supplements the existing information on the adaptive reactions of the organism of cyprinids to changes in the ecological conditions of the habitat at the morphological, hormonal, enzymatic and biochemical levels.

Keywords: juvenile cyprinids, biogenic compounds, ammonium nitrogen, phosphorus of phosphates, morphophysiological status, hormones, energy-intensive compounds, enzyme activity.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ,

в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Кофонов К., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Вплив амонійного азоту на біохімічні показники молоді карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* В.). *Наукові записки ТНПУ ім. В. Гнатюка*. Серія: Біологія. 2019. Т 75. № 1. С. 61-68.

Особистий внесок: постановка та проведення модельних експериментів, відбір біологічного матеріалу, біохімічний аналіз зразків, обчислення та статистична обробка результатів, узагальнення отриманих даних, пошук літературних джерел та написання та оформлення статті.

2. К. Кофонов, О. С. Потрохов, О. Г. Зіньковський Вплив хлориду амонію та монофосфату калію на біохімічні показники молоді краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* Linnaeus, 1758) *Рибогосподарська наука України*. 2020. Т 51. № 1. С. 79-94.

Особистий внесок: постановка та проведення модельних експериментів, відбір біологічного матеріалу, біохімічний аналіз зразків, підрахунок та статистична обробка результатів, узагальнення отриманих даних, підбір та складання списку джерел, написання та оформлення статті.

3. Kofonov K., Potrokhov O. S., Zinkovskiy O. G. Viability of Juvenile Cyprinids under Elevated Content of Ammonium and Phosphates. *Hydrobiological Journal*. 2020. V. 56. №. 5. P. 91-100.

Особистий внесок: постановка та проведення модельних експериментів, відбір біологічного матеріалу, біохімічний аналіз зразків, підсумок та статистична обробка результатів, узагальнення отриманих даних, підбір фахової літератури, написання та оформлення статті.

4. Kofonov K. et al. Changes in the biochemical status of common carp juveniles (*Cyprinus carpio* L.) exposed to ammonium chloride and potassium phosphate. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Т. 10. №. 4. P. 137-147.

Особистий внесок: постановка та проведення модельних експериментів, відбір біологічного матеріалу, біохімічний аналіз зразків, підсумок та статистична

обробка результатів, узагальнення отриманих даних, підбір фахової літератури, написання та оформлення статті.

які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Кофонов К. Вплив підвищеного вмісту біогенів у воді на коропові види риб. *Біологічні дослідження–2017: Збірник наукових праць*. Житомир: ПП «Рута», 2017. С. 86-88.
6. Кофонов К. Зміни біохімічного складу тканин карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* В.) за дії підвищеної концентрації амонійного азоту у воді / *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: збірник матеріалів V науково-практичної конференції для молодих вчених*. К: 2018. С. 25-27.
7. Кофонов К. Життєстійкість молоді коропових видів риб за дії високих концентрацій азоту та фосфору. *Перспективи гідроекологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів: зб. мат. VIII з'їзду Гідроекологічного товариства України, присвяченого 110-річчя заснування Дніпровської гідробіологічної станції*. К:2019. С. 121-124.
8. Кофонов К. Вплив високих концентрацій хлориду амонію на гормональний статус молоді коропа. *Водні екосистеми та збереження їх біорізноманіття: зб. наук. праць*. Житомир: ПНУ, 2020. С. 48-50.
9. Кофонов, К., Причепа М. В., Гупало О. О., Абрамюк І. І. Основні принципи управління міськими водоймами для збереження та підвищення біорізноманіття. *Моніторинг та охорона біорізноманіття в Україні. Прикладні аспекти моніторингу та охорони біорізноманіття*. Київ, 2020. Т. 3, СС ВУ-СА 4.0. С. 275-278.