

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ**

**МАРЦЕНЮК
Вадим Миколайович**

УДК [597.2/.5:504.05:591.044] (043.3)

**ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АДАПТАЦІЇ
РИБ ДО ДІЇ АБІОТИЧНИХ ТА АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ**

03.00.10 – іхтіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті гідробіології НАН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Потрохов Олександр Спиридонович,
Інститут гідробіології НАН України,
завідувач відділу біології відтворення риб

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Грубінко Василь Васильович,
Тернопільський національний педагогічний
університет імені Володимира Гнатюка,
завідувач кафедри загальної біології
та методики навчання природничих дисциплін

кандидат біологічних наук, доцент
Курбатова Інна Миколаївна,
Національний університет біоресурсів і
природокористування України,
доцент кафедри біології тварин

Захист відбудеться «16» травня 2019 р. об 14⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.213.01 Інституту гідробіології НАН України за адресою: 04210, м Київ, просп. Героїв Сталінграда, 12

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту гідробіології НАН України (04210, м Київ, просп. Героїв Сталінграда, 12)

Автореферат розісланий « ____ » квітня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, д.б.н.

Кірпенко Н.І.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Однією з центральних проблем сучасної іхтіології є вивчення резистентності риб та їх адаптації до зміни умов навколишнього середовища (Banaee, 2012; Романенко, 2015). Адаптація організму забезпечується комплексом перебудов, особливу роль в яких відіграють біохімічні механізми, що є основою для розвитку компенсаторних реакцій клітин (Шульман, 2001; Ночаска, 2002; Немова, 2010). При зміні умов середовища або переході організму на іншу стадію розвитку виникають нові завдання, для вирішення яких необхідно враховувати кількісні і якісні зміни у метаболізмі як окремого органу, так і всього організму (Причепа, 2014; Есипова, 2005; Нагорна, 2000; Федоненко, 2012).

Провідну роль при цьому відіграють реакції обміну речовин, внаслідок яких відбувається генерування енергії у вигляді АТФ (Романенко, 2001; Эмертли, 2001; Гулевский, 2007; Bremer, 2011; Alesander, 2013). Ці процеси особливо важливі у біохімічній адаптації риб до впливу екологічних чинників, зокрема підвищення температурного фону, зміни мінералізації води та її забруднення токсикантами різної хімічної природи (Лукин, 1997; Виноградов, 2000; Федоненко, 2008; Немова, 2008; Seebacher, 2009; Потрохов, 2017). При цьому генерування енергії відбувається різними шляхами, інтенсивність яких також залежить від низки чинників (Бретт, 1983). Серед найбільш впливових чинників можна виокремити гідрологічний, гідрохімічний та температурний режим водойм, який в останні роки істотно змінюється; зміни мінерального складу води у природних водоймах, які внаслідок дії різних природних та антропогенних чинників набувають часто критичних для гідробіонтів величин; антропогенне забруднення водойм різноманітними токсичними сполуками тощо.

Останнім часом з'явилися чисельні роботи, що свідчать про істотне екологічне значення окремих абіотичних та антропогенних чинників для гідробіонтів, особливо для риб (Безімова, 2007; Мартемьянов, 2012; Ананьева, 2014). В цих роботах показано зв'язок між інтенсивністю метаболічних реакцій та зміною способу життя в онтогенезі протягом річного циклу, зокрема при голодуванні риб та дозріванні статевих продуктів тощо. Проте, незважаючи на актуальність розкриття механізмів біохімічної адаптації, вплив підвищеної температури, мінерального складу та токсичного антропогенного забруднення водойм на генерування енергії у водяних організмів вивчено недостатньо.

Відомо, що основними причинами зростання мінералізації води у природних водоймах, підвищення її температури протягом річного циклу є глобальне потепління клімату та недостатність атмосферних опадів (Романенко, 2000; Тимченко, 2006; Abraham, 2013; Панасюк, 2015; Жежеря, 2016). Не менш важливою проблемою є інтенсивне надходження токсичних сполук та біогенних елементів, які з кожним роком лише накопичуються в результаті антропогенної діяльності (Sangiao-Alvarellos, 2003; Коваль, 2005; Жежеря, 2016; Курило, 2016).

Саме тому особливий інтерес має дослідження інтенсивності генерування енергії, зокрема у вигляді АТФ, в організмі риб за різних умов існування.

Кількість цієї енергії є визначальною для адаптації водних організмів до дії екологічних чинників.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України в межах держбюджетних тем: «Фізіолого-біохімічні та цитогенетичні механізми пристосування риб та безхребетних до несприятливих змін екологічних чинників» (№ держреєстрації 0113U001581), «Морфо-фізіологічні та біохімічні механізми пристосування риб до умов антропогенно порушених водних екосистем» (№ держреєстрації 0118U003269).

У зв'язку з вищезазначеним було сформульовано мету і завдання досліджень.

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження було вивчення особливостей енергетичного забезпечення тканин коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.), окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) в процесі адаптації їх організму до підвищення температурного фону водойм, зміни мінерального складу води та її надмірного антропогенного забруднення.

Мета дослідження реалізовувалась в ході виконання наступних завдань:

- встановити вміст тиреоїдних та стероїдних гормонів, зокрема тироксину, трийодтироніну та кортизолу, у плазмі крові риб та визначити їх вплив на інтенсивність метаболічних процесів в організмі при змінах температурного режиму, мінерального складу води та при антропогенному забрудненні водойми;

- дослідити зміни активності окремих ферментів енергетичного обміну, зокрема лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в процесі пристосування риб до дії абіотичних та антропогенних чинників;

- дослідити йонний обмін у риб за активністю К, Na–АТФ-ази під дією екологічних чинників;

- з'ясувати вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), величини основних біоенергетичних індексів у тканинах риб за різного температурного режиму, мінерального складу води та антропогенного забруднення водойми;

- вивчити роль основних енергетичних субстратів (білка, глікогену) у процесах адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників.

Об'єкт дослідження – механізми регуляції енергозабезпечення адаптації коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.), окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) до зміни екологічних чинників.

Предмет дослідження – процеси генерування енергії у риб та їх регуляція за умов підвищеної температури та мінералізації води й надмірного антропогенного забруднення водойми.

Методи дослідження – загальноприйняті гідрохімічні, іхтіологічні, біохімічні та статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. На підставі дослідження фізіолого-біохімічного стану риб встановлено видоспецифічні реакції коропа,

окуня та плітки на дію підвищеної мінералізації та температури води, а також при надмірному антропогенному забрудненні водойм. Вперше показано, що на протидію несприятливим чинникам різні види риб залучають різні компенсаторні механізми. Особливу роль відіграє активація альтернативних шляхів генерування енергії. Отримано нові дані щодо гормонального та ферментативного регулювання процесів енергетичного обміну у риб за зміни температури та мінералізації води. Оцінено біоенергетичний стан риб за вмістом аденілових нуклеотидів за впливу абіотичних та антропогенних чинників. Вперше встановлено сезонні особливості енергетичного обміну риб за дії різного рівня антропогенного забруднення. Показано, що плітка є найменш пластичним видом порівняно з коропом та окунем, за змінами вмісту аденілових нуклеотидів під дією абіотичних чинників.

Підтверджено, що короп на протидію підвищеній температурі води активує процеси циклу трикарбонових кислот у тканинах, а окунь та плітка – анаеробного дихання.

Практичне значення одержаних результатів. За біоенергетичним станом тканин риб різних таксономічних груп можна оцінити негативну дію абіотичних та антропогенних чинників середовища. Отримані результати можливо використовувати при прогнозуванні промислових запасів та рибопродуктивності водойм. За енергетичними індексами та вмістом аденілових нуклеотидів в тканинах риб можна проводити нормування скидів стічних вод, щоб не зашкодити їх популяціям. Фізіолого-біохімічні показники риб можуть бути використані для біоіндикації та моніторингу екологічного стану водойм. Отримані результати можуть також бути використані в навчальному процесі при викладанні дисциплін іхтіологічного, фізіологічного, біохімічного та екологічного змісту на факультетах ВНЗ природничого напрямку.

Особистий внесок дисертанта. Автором дисертації особисто розроблено програму та методологію досліджень, опрацьовано літературні джерела з питань обраної проблеми, виконано експериментальні роботи. Друковані праці підготовлено безпосередньо автором, при спільному виконанні експериментів із співробітниками відділу біології відтворення риб Інституту гідробіології НАН України. Співвиконавці приводяться як співавтори відповідних публікацій. Автором самостійно проведено аналіз та узагальнення первинного матеріалу, сформульовано основні положення та висновки роботи, а аналіз окремих положень та написання плану викладення матеріалу в дисертації виконано разом із науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень, наведені в дисертації, доповідалися на 6 конференціях: III Науково-практична конференція для молодих вчених «Сучасна гідроекологія. Місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2016); VIII Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Біологічні дослідження 2017» (Житомир, 2017); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Тернопільські біологічні читання», присвячена 20-ти річчю заснування наукового фахового видання України:

«Наукові записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія» (Тернопіль, 2017); II Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем» (Дніпро, 2017); IV Науково-практична конференція для молодих вчених «Сучасна гідроекологія. Місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем», присвячена 100-річчю Національної академії наук України (Київ, 2017); X Міжнародна іхтіологічна науково-практична конференція «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології» (Київ, 2017).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 12 наукових праць, з яких 6 – у фахових виданнях, 6 – у матеріалах та тезах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 225 сторінках друкованого тексту. Вона складається зі вступу, аналітичного огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 3 розділів власних досліджень з обговоренням і узагальненням одержаних результатів, висновків і списку використаної фахової літератури. Текст ілюстровано 70 рисунками і 2 таблицями. Список використаної фахової літератури містить 237 джерел, із них 140 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЮВАННЯ ОСНОВНИХ ШЛЯХІВ ГЕНЕРУВАННЯ ЕНЕРГІЇ У ТКАНИНАХ РИБ ЗА ДІЇ ЕКОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ

Автором проаналізовано наявні в літературі відомості щодо механізмів регулювання основних шляхів генерування енергії у тканинах прісноводних риб за впливу підвищеної температури та мінералізації води, а також за різного забруднення водойм токсикантами антропогенного походження. Розглянуто фізіолого-біохімічні особливості адаптації різних видів риб до дії абіотичних та антропогенних чинників.

Проаналізовано закономірності змін активності ферментів енергетичного та йонного обміну, концентрації аденілових нуклеотидів та основних біоенергетичних індексів, а також вміст запасних сполук у тканинах риб за різних умов існування. На підставі розглянутого зазначено, що вивчення на фізіолого-біохімічному рівні механізмів адаптації риб до дії екологічних чинників середовища залишається актуальним, особливо в умовах суттєвих змін клімату в останні роки. Особливо гостро це позначається на змінах біоенергетичного стану тканин риб, а також активності ферментів енергетичного та йонного обміну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Модельні експерименти щодо дослідження впливу підвищеної температури на організм риб проведено у червні місяці на дворічках коропа звичайного *Cyprinus carpio* L., окуня річкового *Perca fluviatilis* L. та плітки звичайної *Rutilus rutilus* L. на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Риб утримували в експериментальних акваріумах об'ємом 75 дм³, наповнених водою із р. Рось,

яку змінювали 1 раз на 3 доби, та облаштованих системою нагрівання та аерації. Схема дослідів була наступною: 5 експериментальних акваріумів, у яких вода протягом дня поступово нагрівалася до 26°C, 28°C, 30°C та максимальної температури 34°C, а на ніч нагрівачі вимикались, що супроводжувалося зниженням температури води у кожному акваріумі на 2°C, 4°C, 6°C та 7–8°C відповідно. Контролем слугував акваріум із температурою 24°C, у якому цей параметр підтримувався постійно (без коливань). Концентрація розчиненого у воді кисню підтримувалася в межах $5,5 \pm 0,9$ мг/дм³ (з підвищенням температури вміст кисню у воді дещо знижувався), рН – $7,0 \pm 0,2$. Період аклімації риб становив 14 діб, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на дію стрес-чинника. Окуня під час експерименту годували мальком чебачка амурського та хірономідами, а коропа та плітку – рибним комбікормом. Тканини (м'язи, зябра, печінку) та кров риб відбирали в кінці експерименту.

Дослідження впливу підвищеної мінералізації води на організм риб проводили на вищезгаданих видах в тих же умовах. Різний ступінь мінералізації, а саме 1,0 г/дм³, 1,5 г/дм³ та 2,0 г/дм³ отримували за рахунок внесення у воду з р. Рось, мінералізація якої становила 0,5 г/дм³, відповідної кількості солей, до складу яких входять йони елементів, частка яких є найбільшою у визначенні мінералізації прісноводних водойм. Такими солями були CaCl₂, MgSO₄, KI та гідрокарбонат натрію NaHCO₃. Контролем слугував акваріум із річковою водою. Період аклімації риб становив також 14 діб. Досліди проводили з дотриманням норм біоетики.

Для дослідження впливу антропогенного забруднення на риб було обрано два озера, які розміщені у межах м. Києва та характеризуються гідрохімічними і токсикологічними особливостями. Цими водоймами були оз. Кирилівське (Опечень верхнє) – водойма із системи озер Опечень (забруднена водойма), та оз. Бабине, що знаходиться на Трухановому острові (відносно чисте озеро, контроль). Відлов риб здійснювали вудковими та спінінговими знаряддями лову за загальноприйнятими в іхтіології методами. Об'єктами дослідження були окунь річковий *Perca fluviatilis* L. та плітка звичайна *Rutilus rutilus* L., які характерні для цих водойм та є аборигенними.

Необхідну кількість риб (по 25–30 екз. кожного виду для модельних експериментів, та по 5–7 екз. із кожної дослідної водойми) відбирали для проведення біохімічних досліджень. Кров із серця отримували за допомогою пастерівської голки та гепаринізованого шприца, в подальшому її центрифугували для виділення плазми та зберігали в морозильній камері при -18°C. Для досліджень, крім плазми крові, відбирали інші тканини (зябра, печінку та м'язи). Їх також заморожували і зберігали для подальших біохімічних досліджень за температури -18°C.

На дослідних водоймах під час лову риб та у експериментальних акваріумах проводили вимір концентрації розчиненого кисню у воді методом Вінклера (Арсан та ін., 2006), водневого показника (рН) за допомогою рН-метра РН-009, загальної мінералізації води – TDS-метром IDS-2, температури – ртутним лабораторним термометром із ціною поділки 0,1°C. Концентрацію

окремих йонів, токсичних сполук у воді було взято з літературних джерел та даних санепідемстанції. Вміст металів (Zn, Cd, Pb, Co, Ni, Fe, Mn, Mg, Ca, Na, K, Cu) у воді дослідних водойм вимірювали після концентрування відібраних зразків шляхом випарювання на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 із використанням відповідних стандартів.

Визначення вмісту АТФ, АДФ та АМФ у тканинах відповідних органів риб проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинках «Sorbfil» з використанням системи розчинників: 1,4-діоксан, ізопропанол, аміак, вода у співвідношенні (4:2:1:4) (Зарубина, 1982).

Показники, що характеризують стан енергетичного обміну розраховували за формулами: аденілатний енергетичний заряд (ЕЗ) – $EЗ = (АТФ + 1/2 АДФ) / (АТФ + АДФ + АМФ)$; енергетичний потенціал (ЕП) – $ЕП = АТФ / АДФ$; індекс фосфорилування (ІФ) – за співвідношенням $(АТФ / АДФ + Ф_n)$; термодинамічний контроль дихання (ТДК) – $(АДФ / АМФ)$; коефіцієнт порівняння (КП) – $((АТФ + АМФ) / АДФ)$ (Орлова, 2009). Також розраховували відсоткове співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб.

К,Na–АТФ-азну активність (КФ 3.6.3.9) у тканинах печінки, зябер та м'язів визначали за збільшенням вмісту неорганічного фосфору в інкубаційному середовищі методом (Кондрашова та ін., 1965). Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) (КФ 1.3.5.1) встановлювали стандартним методом за кількістю відновленого гексаціаноферату (III) калію (Асатиани, 1965). Активність цитохромоксидази (ЦО) (КФ 1.9.3.1) визначали за методом, описаним Р.С. Кривченковою (Кривченкова, 1977). Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) (КФ 1.1.1.27) визначали з використанням стандартних комерційних наборів «Філісіт-Діагностика, Україна». Загальний вміст тироксину (Т4), трийодтироніну (Т3) та кортизолу у плазмі крові риб визначали імуноферментним методом, використовуючи комерційні набори «Т3–ІФА», «Т4–ІФА» (НВЛ Гранум, Україна) та «ДС-ІФА-Стероїд-Кортизол» (НВО «Діагностичні системи», Росія) з допомогою ІФА-аналізатору Rayto RT-2100С. Вміст глюкози встановлювали спектрофотометрично глюкозооксидазним методом з використанням стандартних комерційних наборів «Глюкоза-Ф» («Філісіт-Діагностика», Україна), вміст глікогену – прямим антроновим методом (Осадчая, 1982). Вміст загальних білків у тканинах встановлювали за Лоурі (Lowry et al, 1951).

Статистичну обробку даних проводили з використанням програм Statistica 10.0 та програми Excel із пакету Microsoft Office.

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ ВОДИ

Біохімічні показники плазми крові риб. Відомо, що своєчасність розвитку адаптивних реакцій риб на біохімічному рівні, у першу чергу, забезпечує ендокринна регуляція обміну речовин (Дерун, 2007; Потрохов, 2017; Wang, 2004). У процесі пристосування риб до змін чинників середовища важлива роль належить нейрогуморальним процесам регуляції обміну речовин.

В результаті наших досліджень встановлено, що за температури води 26°C спостерігався найвищий вміст тироксину та трийодтироніну у плазмі крові окуня, який переважав контроль у 1,63 та 2,03 рази відповідно. При цьому вміст тироксину у плазмі крові був суттєво більшим, ніж трийодтироніну (7,0 нМоль/дм³ тироксину проти 1,01 нМоль/дм³ трийодтироніну у контролі). При подальшому підвищенні температури до 34°C вміст тироксину знизився до рівня контролю.

У крові коропа за температури води 34°C відмічено зменшення вмісту тироксину та трийодтироніну в 1,93 та 1,5 рази менше відносно контролю. Можна припустити, що причиною таких змін слугує сповільнення катаболічних процесів в організмі коропа, яке набагато інтенсивніше, ніж у окуня, тобто без попереднього зростання величини зазначених показників. Такі фізіологічні перебудови можуть супроводжуватися зменшенням генерування енергії внаслідок зниження активності окисно-відновних реакцій.

Щодо плітки, то зі зростанням температури зафіксовано чітку тенденцію до збільшення концентрації тиреоїдних гормонів. Так, за температури 34°C вміст тироксину та трийодтироніну у плазмі крові плітки був у 3,79 та 2,62 рази відповідно вищим, ніж у контролі. Отримана закономірність є протилежною динаміці змін величини цих показників у коропа та окуня. Це може вказувати на підвищену потребу організму плітки у енергії для забезпечення нормального функціонування за подібних умов. Також пропорційне підвищення вмісту Т4 та Т3 вказує на пригнічення взаємоконвертування цих гормонів.

За температури води 26°C зафіксовано підвищення концентрації глюкози у плазмі крові окуня та коропа відносно контролю у 2,08 та 1,57 рази відповідно. Вміст глюкози у плазмі крові плітки вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався по мірі зростання температури води, та при 34°C був на рівні 7,3 ммоль/л, що менше за контроль у 1,43 рази. Оскільки підвищений рівень тиреоїдних гормонів вказує на активацію анаболічних процесів в організмі цього виду, але водночас концентрація глюкози зменшується, то можна стверджувати, що катаболічні процеси (зокрема метаболізм вуглеводів) в все ж домінують за згаданих умов.

Ферментативна активність тканин риб. Встановлено, що у коропа із підвищенням температури води від 24°C до 34°C відбувається поступове незначне збільшення К,Na-АТФ-азної активності у м'язах та вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження активності ферменту порівняно з контролем (у 1,64 рази) у зябрах. Виявлена закономірність може свідчити про те, що із підвищенням температури для забезпечення енантіостазу цей вид витрачає більшу кількість енергії, яка вивільняється в процесі гідролізу АТФ.

У зябрах окуня підвищення АТФ-азної активності в 1,70 рази щодо контролю може свідчити про активацію йонного обміну, а також посилений гідроліз АТФ на фоні загальної активації катаболічних реакцій. У плітки при зростанні температури зафіксовано суттєве зниження АТФ-азної активності у тканинах, що, в свою чергу, супроводжується пригніченням йонного обміну.

Активність СДГ за умов експерименту змінювалась видоспецифічно. Варто відмітити суттєве зниження активності ферменту у м'язах та зябрах

плітки у 3,39 та 8,92 рази відповідно відносно контролю. Очевидно у тканинах плітки сповільнюється реакція окиснення сукцинату до фумарату, та, в цілому, інгібується активність циклу трикарбонових кислот. У коропа та окуня активність ферменту також інгібується у міру підвищення температури води, однак набагато менше, ніж у плітки. Тому за цим критерієм плітка менш резистентний вид до дії підвищеної температури води, ніж окунь та короп.

Активність ЛДГ у досліджуваних видів риб суттєво відрізняється. У м'язах та зябрах коропа первинне інгібування активності ферменту зафіксовано при температурі води 26°C. По мірі підвищення температури активність ЛДГ змінювалась у дуже вузькому діапазоні. У м'язах окуня встановлено суттєве пригнічення гліколітичних процесів, підтвердженням чого є значне зниження активності ЛДГ (у 7,23 рази щодо контролю). У плітки за активністю цього ферменту було встановлено активацію анаеробної гілки метаболізму у м'язах та її пригнічення у зябрах. Оскільки активність СДГ та АТФ-ази у зябрах цього виду також знижується за умов експерименту, то очевидно, що функціонування енергетичного та йонного обміну у зябрах плітки ускладнене.

Фактично у всіх досліджуваних видів встановлено зниження активності ЦО при підвищенні температури води, однак у різній мірі. Найменш чутливим за цим параметром виявився короп. Серед вагомих змін варто відмітити зниження активності ЦО у 3,38 рази відносно контролю при 34°C у зябрах окуня та суттєве зниження цього параметру у тканинах плітки (у 2,06 та 6,45 рази відповідно у м'язах та зябрах). Очевидно, що цей вид найважче переносить дію підвищеної температури води. Енергетичні та окиснювальні процеси в тканинах плітки суттєво реорганізуються та функціонують з мінімальною інтенсивністю.

Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб. Експерименти показали, що підвищення температури води від 24 до 34°C викликає у тканинах коропа незначне зниження вмісту АТФ та АДФ. При цьому концентрація АМФ дещо зростає.

Оцінюючи можливі причини зниження вмісту АТФ у м'язах та зябрах коропа при підвищенні температури, можна припустити підсилення інтенсивності енергозалежних процесів в тканинах і обмеження швидкості окиснювального фосфорилування в мітохондріях. Щодо співвідношення аденілатів, то зафіксовано тенденцію до поступового зниження частки АТФ, починаючи від температури 26°C, та підвищення частки АМФ та АДФ у м'язах окуня, що за температури 34°C були у співвідношенні АТФ:АДФ:АМФ – 43%:29%:27%, проти 55%:28%:16% у контролі (рис. 1).

Очевидно, що підвищення частки аденозинмонофосфату у м'язах окуня в 1,70 рази може вказувати на переважання енергозатратних процесів над енергогенеруючими. Також ми припускаємо, що відповідні зміни спричинені сповільненням катаболічних процесів у метаболізмі аденілатів та пригніченням окиснювального фосфорилування.

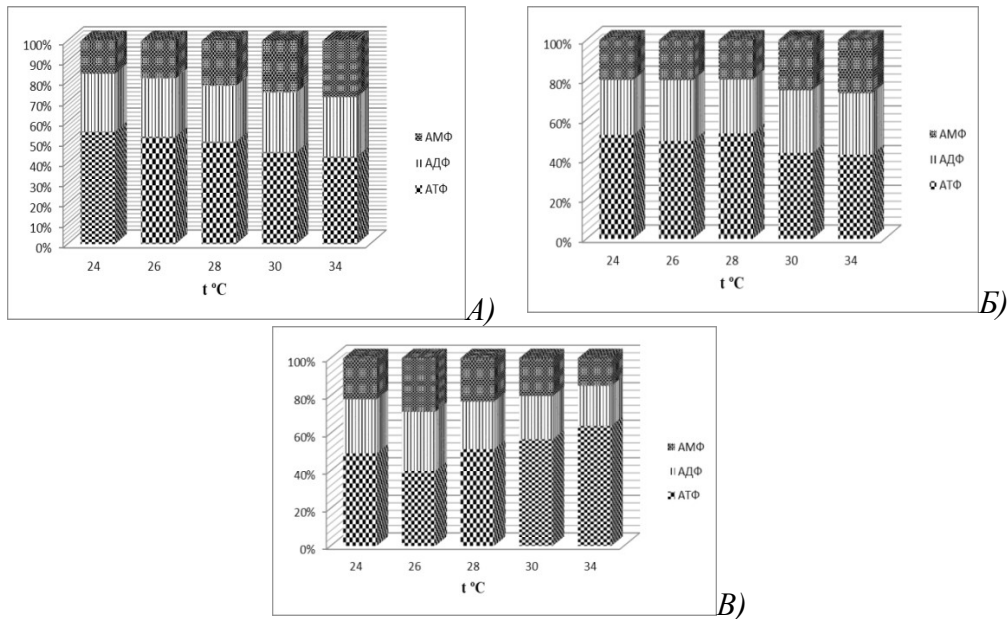


Рис. 1. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) окуня за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$)

При зростанні температури до 34°C встановлено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту АТФ у м'язах та зябрах плітки у 1,76 та 1,54 рази відповідно щодо контролю. Концентрація АДФ у м'язах цього виду риб також знижувалась та за максимальної температури була нижчою за контроль у 2,28 рази. При цьому вміст АМФ за умов експерименту вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищувався у тканинах досліджуваних риб, що порушувало нормальне співвідношення між компонентами аденілатного пулу. Зростання частки АМФ вказує на пригнічення енергозалежних процесів та дихального ланцюга мітохондрій у тканинах плітки. Не виключено, що подібний перерозподіл може свідчити і про інактивацію фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів.

Динаміка основних біоенергетичних індексів у тканинах риб.

Здатність клітини виконувати енергозалежні процеси (наприклад транспорт йонів, біосинтез білка) визначається величиною аденілатного енергетичного заряду (ЕЗ). Зазначений показник за умов експерименту у тканинах коропа змінювався в дуже вузькому діапазоні, що свідчить про високу стійкість цього виду до підвищення температури на рівні метаболізму аденілатів. У м'язах та зябрах окуня ЕЗ вірогідно знижувався по мірі підвищення температури води до 34°C, а у печінці навпаки зростав. Подібні зміни ЕЗ у печінці окуня можуть бути спричинені зміною рівноваги між АТФ, АДФ та АМФ в бік зростання частки АТФ при одночасному зниженні вмісту АДФ та АМФ. В подальшому такі перебудови можуть призвести до виникнення енергодефіциту в організмі окуня, оскільки високий ЕЗ інгібуватиме синтез АТФ.

У плітки ж зафіксовано закономірне зниження величини ЕЗ у м'язах, зябрах та печінці у 1,23, 1,15 та 1,21 рази відповідно щодо контролю за температури води 34°C. Подібні зміни свідчать про розвиток енергетичної втоми в організмі плітки, що відображається у недостатній інтенсивності фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів, та, як наслідок, утворення малої кількості АТФ.

Величина таких біоенергетичних коефіцієнтів, як індекс фосфорилування, коефіцієнт порівняння, енергетичний потенціал та термодинамічний контроль дихання вказують на те, що підвищення температури води спричиняє реорганізацію компонентів аденілатного пулу тканин досліджених видів риб. У коропа функціонування процесів окиснювального фосфорилування практично не порушується із підвищенням температури води, тоді як організми окуня та плітки в багатьох випадках залучає менш ефективне субстратне фосфорилування. При цьому в окремих тканинах плітки був відмічений розвиток гіпоенергетичного стану.

Цікавим є також, що за створених умов короп та окунь накопичують глікоген у печінці, що може бути результатом активації глікогенезу. Не виключено, що підвищена температура може інгібувати ферментативну систему процесу глікогенолізу в цих видів, що супроводжується накопиченням цього субстрату. Варто відмітити стрімке зменшення кількості глікогену в печінці плітки, що може бути наслідком включення цього вуглеводу в процеси енергетичного обміну. Отримані результати можуть бути використані для розширення розуміння екологічної пластичності зазначених видів риб в умовах мінливого навколишнього середовища.

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ ВОДИ

Біохімічні зміни у плазмі крові риб. Встановлено, що за підвищення концентрації солей у воді з 0,5 до 1,0 г/дм³ вміст ТЗ у крові коропа, окуня та плітки знижувався відповідно у 2,23, 1,83 та 3,27 рази. При подальшому підвищенні мінералізації вміст гормону у всіх видів зростав та наближався до контрольних величин. При максимальній мінералізації (2,0 г/дм³) рівень ТЗ у крові коропа був на рівні контролю, а в окуня та плітки перевищував його в 1,18 та 1,99 рази відповідно. Зростання вмісту ТЗ у окуня та плітки по мірі підвищення мінералізації викликає активацію енергетичного обміну, спрямовану на забезпечення осморегуляції. Короп же, очевидно, легше пристосовується до змін мінералізації в певних межах, ніж окунь та плітка, про що і свідчить практично однаковий при 2,0 та 0,5 г/дм³ вміст ТЗ у плазмі його крові.

Встановлено, що за вмістом кортизолу у крові короп та плітка на зміну мінералізації води реагують однаково – з підвищенням мінералізації з 0,5 до 2,0 г/дм³ зафіксовано зростання вмісту кортизолу як у коропа, так і у плітки у 3,13 та 3,87 рази відповідно. Очевидно, в організмі цих видів розвиваються адаптивні реакції, які супроводжуються мобілізацією енергетичних ресурсів (Vijayan, 1988). Це дозволяє їм заощаджувати енергетичні запаси, та дає змогу повернути організм у стан гомеостазу після дії чинника. В окуня відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту кортизолу в плазмі крові по мірі зростання мінералізації, що може стати причиною активного конвертування Т4 у Т3.

Ферментативна активність тканин риб. Активність ферментів енергетичного обміну (ЛДГ, СДГ та ЦО) у тканинах риб також великою мірою

залежить від зміни концентрації солей у воді та є важливим показником осмотичної регуляції риб.

Із підвищенням мінералізації води до $1,5 \text{ г/дм}^3$ у м'язах коропа зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,04$) зростання АТФ-азної активності у 2,68 рази щодо контролю, проте за максимальної мінералізації величина цього показника знизилася до рівня контролю. У зябрах цього виду активність ферменту також підвищувалася за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ у 1,68 рази щодо контролю (рис. 2). Це свідчить про активацію обмінних процесів у респіраторному апараті коропа. Також відповідну реакцію можна вважати захисним механізмом за дії підвищеної концентрації йонів солей у воді.

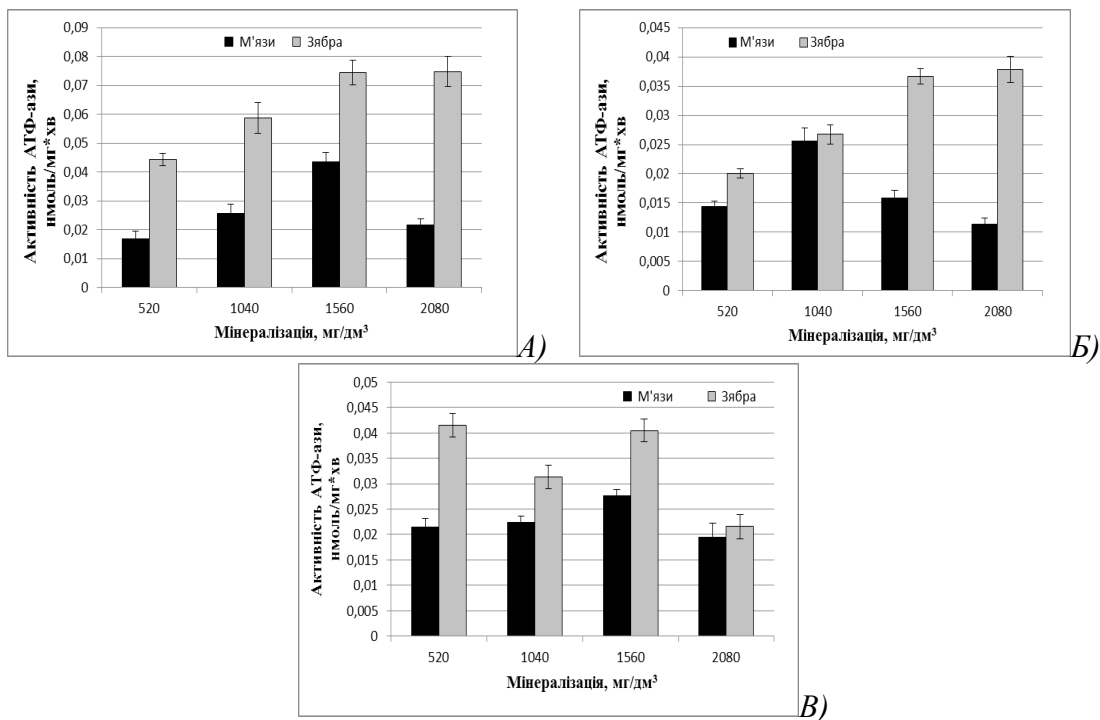


Рис. 2. К, Na–АТФ-азна активність у тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води ($M \pm m$, $n=5$)

У зябрах окуня, як і в коропа, із підвищенням мінералізації води АТФ-азна активність вірогідно зростає (рис. 2). Це може бути свідченням посилення транспорту йонів через мембрани клітин внаслідок збільшення їх концентрації у воді. Інгібування АТФ-азної активності у зябрах плітки із підвищенням мінералізації води може свідчити про низьку інтенсивність енергетичного обміну у зябрових пелюстках. Наслідком цього може бути ускладнення процесів транспортування йонів калію в клітину, а натрію із неї.

Активність СДГ у тканинах коропа зростає по мірі підвищення мінералізації води, що свідчить про активацію реакції окиснення сукцинату до фумарату та, в цілому, функціонування циклу трикарбонових кислот. У м'язах та зябрах окуня й плітки аеробні процеси інгібуються з підвищенням мінералізації води, про що свідчить суттєве зниження активності СДГ.

Щодо ЛДГ, то у м'язах та зябрах окуня зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) підвищення активності ферменту за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ в 1,41 та 1,34 рази відповідно щодо контролю. У плітки реакція на рівні цього ферменту

майже ідентична. Подібне переважання гліколізу над циклом трикарбонових кислот у тканинах риб забезпечує підтримання енергетичних запасів на мінімальному рівні до моменту, коли інгібуюча дія несприятливого чинника припиниться. За подібних умов інтенсивність йонообмінних процесів у їх тканинах також сповільнюється, оскільки лімітуючим чинником тут виступає кількість енергії у вигляді АТФ.

На підвищення мінералізації води коропа реагував зростанням активності ЦО в м'язах у 1,93 рази щодо контролю за максимальної концентрації солей у воді. Ці зміни позитивно корелюють із активністю СДГ у тканинах коропа та підтверджують активацію процесів аеробного шляху генерування енергії. Варто відмітити, що активність ЦО в зябрах коропа істотно вища, порівняно з м'язами, що підтверджує її функціональну залежність від наявності кисню в тканинах.

У тканинах окуня та плітки активність ЦО вірогідно ($P \leq 0,05$) знижується по мірі підвищення мінералізації води, що прямо вказує на пригнічення функціонування аеробного шляху генерування енергії. Альтернативою цьому є переключення метаболізму у тканинах риб на безкисневий шлях генерування енергії, підтвердженням чого є вищезгадане підвищення активності ЛДГ. Висока швидкість використання АТФ на забезпечення транспорту йонів через мембрани та мала швидкість його генерування призведе до неспроможності клітин виконувати зазначені функції в подальшому, результатом чого може бути критичне порушення йонного гомеостазу клітин та тканин.

Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб. Встановлено, що чотирикратне підвищення мінералізації води суттєво змінювало співвідношення аденілових нуклеотидів у печінці коропа, а саме викликало зменшення частки АТФ та підвищення АМФ. Це свідчить про активний гідроліз АТФ та пригнічення його ресинтезу. Очевидно, в цьому випадку має місце зниження інтенсивності дихання мітохондрій в гепатоцитах коропа. На рівні інших органів зміни виражені меншою мірою.

Щодо окуня, то в його м'язах із підвищенням мінералізації води до 2,0 г/дм³ виявлено зниження вмісту АТФ у 1,68 рази та суми аденілатів 1,51 рази щодо контролю. Значна реорганізація інших компонентів аденілатного пулу може свідчити про інтенсивне використання енергії в тканинах окуня та суттєві зміни в метаболізмі аденілатів. Варто також відмітити, що за підвищення мінералізації води у печінці окуня активується фосфорилування низькоенергетичних фосфатів, зокрема АДФ, внаслідок чого підвищується кількість АТФ.

Склад компонентів аденілатного пулу тканин плітки характеризується нерівномірним розподілом макроергічних сполук при всіх досліджуваних рівнях мінералізації води. Співвідношення АТФ:АДФ:АМФ у печінці плітки за максимальної мінералізації становило 42%:34%:24% проти 55%:31%:14% у контролі (рис. 3). Очевидно, зниження частки АТФ та суттєве підвищення частки АМФ свідчить про інтенсивне дефосфорилування високоенергетичного фосфату. Розвиток енергетичної втоми тканин печінки плітки, ймовірно,

компенсується за рахунок АДФ, оскільки її частка майже не змінюється із підвищенням мінералізації води.

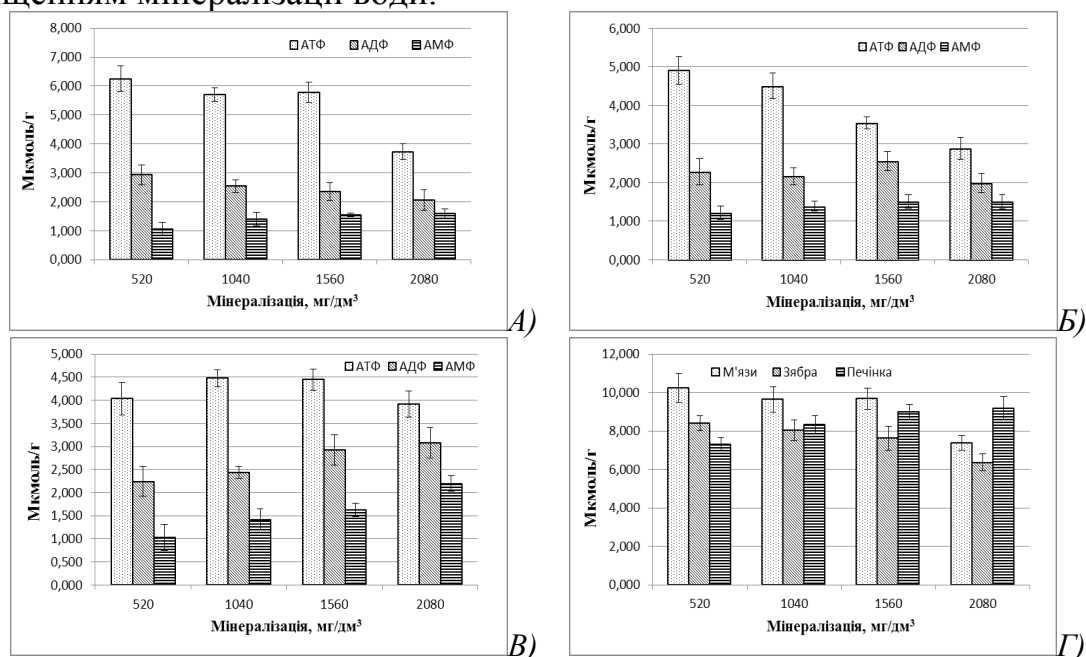


Рис. 3. Вміст аденілових нуклеотидів та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) в м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) плітки за дії підвищеної мінералізації води ($M \pm m$, $n=5$)

Зміна величини основних біоенергетичних індексів у тканинах риби.

Підвищення мінералізації води до 2,0 г/дм³ супроводжувалось вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням величини ЕЗ у печінці коропа на 31% щодо контролю. Це вказує на значні зміни у співвідношенні компонентів аденілатного пулу, що виражається у зниженні частки АТФ та підвищенні АДФ і АМФ. Зниження ЕЗ, очевидно, активує ресинтез АТФ, проте вміст останнього свідчить про переважання інтенсивності гідролізу макроерга.

У м'язах та зябрах окуня підвищення мінералізації води з 0,5 до 2,0 г/дм³ стимулювало нерівномірне та незначне зниження величини ЕЗ. Оскільки вміст АТФ у м'язах вірогідно знижувався, то це свідчить про сповільнення його генерування поряд із активацією розпаду. У тканинах плітки по мірі підвищення мінералізації води величина ЕЗ суттєво знижувалася, що свідчить про розвиток дефіциту енергії в організмі цього виду. Це також відображається у недостатній інтенсивності фосфорилування низькоенергетичних фосфатів, та, як наслідок, малій інтенсивності ресинтезу АТФ.

Аналізуючи динаміку індексу фосфорилування, коефіцієнту порівняння, енергетичного потенціалу та термодинамічного контролю дихання за умов експерименту, варто відмітити, що у тканинах окуня та плітки енергозатратні процеси значно домінують над енергогенеруючими. При цьому, в організмі плітки чітко зафіксовано розвиток гіпоенергетичного стану. Короп виявився більш пристосованим до дії підвищеної мінералізації води, оскільки адаптується за рахунок активації аеробних шляхів генерування енергії.

Таким чином, збільшення концентрації йонів у воді викликає в організмі риби реорганізацію осморегуляційних процесів, що в більшості випадків проявляється у зміні основних шляхів генерування енергії. Також встановлено,

що важливу роль в регулюванні цих процесів відіграє гормональна система риб, зокрема гормони щитоподібної та інтерренальної залози. Динаміка вмісту та співвідношення аденілових нуклеотидів вказує на те, що до дії цього чинника риби в основному пристосовуються через посилений синтез АТФ, використовуючи на це запаси основних енергетичних субстратів.

ВПЛИВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН В ОРГАНІЗМІ РИБ

Розвиток інфраструктури м. Києва неминуче посилює антропогенне навантаження на міські водойми, тим самим погіршуючи екологічну ситуацію навіть у відносно благополучних гідроекосистемах.

Вміст гормонів у плазмі крові риб. За результатами досліджень встановлено, що у весняний період по закінченню нересту вміст трийодтироніну та тироксину в плазмі крові окуня із оз. Бабине у 4,78 та 1,18 рази відповідно вищий, ніж у окуня із оз. Кирилівське. Зростання ТЗ може свідчити про посилення окиснювальних процесів у тканинах риб, а його нижчий вміст влітку та восени, ймовірно, спричинений коливаннями кисневого та температурного режиму. Крім того, можна припустити, що знижений вміст тиреоїдних гормонів у окуня із оз. Кирилівське є наслідком надмірного антропогенного навантаження на цю водойму в комплексі із виснаженістю риб у весняний період.

Плітка за впливу антропогенного навантаження виявилася більш пластичною, ніж окунь, та, вочевидь, здатна активно протидіяти несприятливому середовищу завдяки активації метаболічних реакцій, про що свідчить підвищений рівень тиреоїдних гормонів у її крові протягом всіх досліджуваних сезонів.

Щодо вмісту кортизолу, який відповідає за розвиток стрес-реакцій, то у риб із забрудненого озера він вищий, ніж у контрольній водоймі, а саме в 2,3 та 1,6 рази відповідно в окуня та плітки. При цьому, подібна закономірність спостерігалась протягом всіх сезонів. Очевидно, зміна гідрохімічного режиму в оз. Кирилівське спричиняє інтенсивне використання енергетичних ресурсів організмом риб. Також рівень гормону вказує на наявність стресового стану у риб, що є проявом компенсаторних механізмів на дію надмірного антропогенного забруднення озера.

Вміст глюкози у плазмі крові риб. Встановлено, що влітку вміст глюкози у крові окуня із оз. Кирилівське був у 1,43 рази вищим, ніж у риб із оз. Бабиного. У плітки з контрольного озера, навпаки, концентрація глюкози в плазмі крові у 1,44 рази вища. Описані зміни можуть бути пов'язані із різною таксономічною приналежністю (Причепа, 2017) досліджуваних видів. Очевидно, що в цей період у плазму крові окуня із оз. Кирилівського надходить більша кількість глюкози для протидії токсичному впливу навколишнього середовища. Проте її використання недостатньо інтенсивне. Зниження вмісту глюкози у плітки із забрудненого озера може бути наслідком підвищеної її утилізації для забезпечення енергетичного гомеостазу організму за подібних умов існування.

Сезонна динаміка активності ферментів енергетичного обміну. У зябрах плітки з оз. Кирилівське влітку зафіксовано найвищу активність ЛДГ ($P \leq 0,05$) та найнижчу активність СДГ порівняно із іншими сезонами. Характерним є те, що активність ЛДГ у зябрах плітки з оз. Кирилівське кожного сезону була вищою, ніж з оз. Бабіне. Це вказує на переважання гліколітичних процесів у них. Подібні зміни можуть бути викликані значним вмістом багатьох токсикантів, що перевищує ГДК.

За змінами активності СДГ можна дійти висновку, що аеробні процеси у зябрах окуня із оз. Кирилівського в літній та осінній періоди пригнічуються. Не виключено, що це є набутою впродовж багатьох років перебування у цій водоймі адаптивною реакцією, що дозволяє зберігати енергетичні ресурси на мінімальному рівні.

Зниження АТФ-азної активності в зябрах плітки із забрудненої водойми весною та влітку може свідчити про низьку інтенсивність обмінних процесів у її тканинах. Не виключено, що причиною цього може бути зміна проникності мембран клітин внаслідок токсичної дії водного середовища. При цьому інгібується АТФ-залежна транспортна система мембран клітин зябер.

Восени встановлено підвищення АТФ-азної активності в 1,72 та 1,28 рази відповідно у м'язах окуня та плітки з оз. Кирилівське щодо риб із контрольного озера. Це є свідченням активного функціонування натрій-калієвої помпи мембран м'язових клітин. Ці зміни можуть бути пов'язані з детоксикацією в тканинах риб чужорідних речовин, а це процеси, які потребують значної кількості енергії. У такий спосіб риби можуть витримувати періоди посиленого антропогенного навантаження та зберігати нормальну життєдіяльність.

У тканинах риб із забрудненого озера (переважно зябрах) зафіксовано нижчу активність ЦО, порівняно з рибами із контрольної водойми. Подібні зміни корелюють із активністю СДГ, що є ще одним підтвердженням ускладненого функціонування циклу трикарбонових кислот та дихального ланцюга мітохондрій у тканинах риб з оз. Кирилівське.

Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб. Дослідження показали, що рівновага аденілатного пулу в тканинах риб із забрудненого озера найчастіше зміщується в бік підвищення частки низькоенергетичних фосфатів (зокрема у літній період).

Якщо розглядати сумарний вміст аденілатів АТФ+АДФ+АМФ у тканинах риб із досліджуваних водойм у сезонному аспекті, то також можна відмітити низьку особливостей. У м'язах окуня та плітки з оз. Кирилівське сума аденілатів у літній та осінній періоди вірогідно ($P \leq 0,05$) менша, ніж навесні (рис. 4). Це часто пов'язано із зменшенням вмісту АТФ в м'язах риб у зазначені періоди, коли аденілатний пул представлений високою часткою АМФ.

Варто відмітити поступове накопичення суми аденілових нуклеотидів у зябрах плітки з оз. Кирилівське та вірогідне зниження величини цього показника у її печінці з весни до осені. Перерозподіл аденілатного пулу у тканинах плітки вказує на те, що в її зябрах адаптація до зміни чинників зовнішнього середовища відбуваються через активацію енергогенеруючих процесів, тоді як в м'язах енергетичні ресурси активно витрачаються.

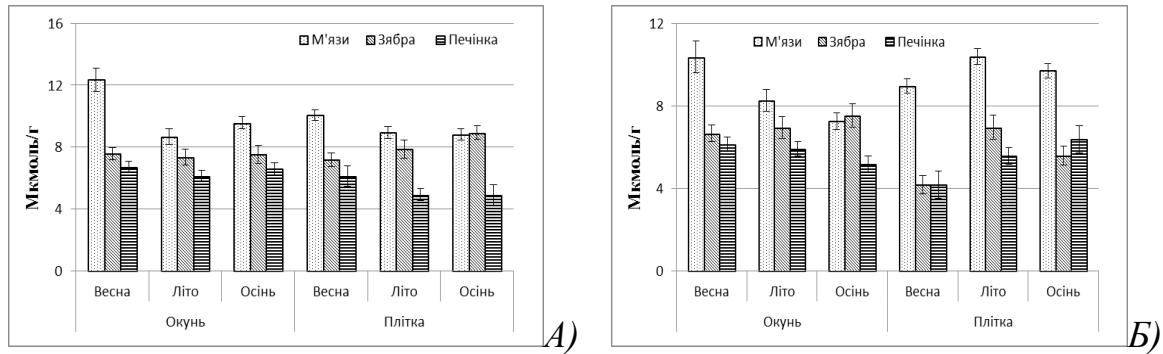


Рис. 4. Сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) аденілових нуклеотидів у тканинах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б) ($M \pm m$, $n=5$)

В окуня сезонна динаміка суми аденілатів подібна в контрольній та забрудненій водоймах, однак у риб з оз. Кирилівське спостерігається переважання АТФ. Плітка ж з оз. Бабине до осені накопичує аденілати у всіх досліджуваних тканинах.

Динаміка основних біоенергетичних коефіцієнтів дає змогу краще зрозуміти механізми енергетичного забезпечення тканин риб, які знаходяться в різних умовах існування. Практично всі отримані дані вказують на те, що в тканинах окуня та плітки із забрудненого озера у літній та осінній періоди енергозатратні процеси домінують над енергогенеруючими. Причиною цього може бути як ускладнення анаболізму риб в умовах високого антропогенного забруднення, так і те, що це є своєрідним механізмом забезпечення процесів ізоляції та детоксикації. В будь-якому випадку, зазначені реакції є практично протилежними тим, що спостерігаються у риб з контрольного озера.

Вміст деяких енергетичних субстратів у тканинах риб. Інтенсивність біосинтетичних процесів у тканинах досліджуваних видів риб має сезонну залежність. Зафіксовано підвищений вміст білка у зябрах плітки із забрудненого озера весною, що може бути одним з механізмів ізоляції цього органу від несприятливої дії середовища із надмірним забрудненням, викликаним надходженням до водойми токсичних сполук із р. Сирець, зокрема фенолів. Відомо, що за дії фенолу та крезолу на організм деяких риб спостерігається зростання вмісту білка у тканинах їх зябер, та одночасне його зниження у печінці, що, вочевидь, вказує на його тканинний перерозподіл.

У печінці окуня з оз. Кирилівське у весняний період зафіксовано найменший вміст білка порівняно з іншими сезонами. Це підтверджує, що переднерестовий період характеризується активізацією обмінних процесів у риб, що виражається у посиленні витрат запасних енергетичних сполук, а саме їх залученні в енергетичний обмін.

Вміст глікогену у печінці плітки із оз. Бабине у весняний період вірогідно ($P \leq 0,05$) вищий (у 2,81 рази) щодо плітки із оз. Кирилівське. Проте, в літній та осінній періоди зафіксовано накопичення глікогену у печінці цього ж виду із забрудненого озера. Вміст глюкози в плазмі крові плітки із оз. Кирилівське весною нижчий, ніж влітку, що позитивно корелює із вмістом глікогену у печінці. Враховуючи, що вміст білків у печінці плітки весною нижчий,

порівняно з літом, можна припустити, що процеси глюконеогенезу у цього виду домінували над процесами глікогенолізу. Глюкоза більшою мірою утворювалася із амінокислот.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що первинна реакція у різних видів риб на дію підвищеної температури води може суттєво відрізнятися. При цьому, за підвищення температури води вище зони толерантності риб, функціонування енергетичного обміну в їх організмі погіршується, що за тривалої дії цього чинника призводить до енергетичного виснаження. Так, у коропа відмічене поступове зменшення вмісту тироксину та трийодтироніну у плазмі крові за зростання температури води до 34°C. Варто припустити, що причиною таких змін є сповільнення катаболічних процесів в організмі коропа.

Пропорційне зростання вмісту T4 та T3 у плазмі крові плітки з підвищенням температури води вказує на активацію обмінних процесів, спрямованих на протидію несприятливому чиннику, а також деяке пригнічення взаємного конвертування цих гормонів. Низка авторів пов'язують такі зміни із інактивацією дихального ланцюга мітохондрій, що ускладнює процес подолання негативної дії високої температури води, а також компенсації гіпоксичного стану тканин.

Вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові окуня свідчить про прискорення енерговитрат в його організмі спочатку, та у подальшому – активацію енергогенеруючих процесів при підвищенні температури. Як і у коропа, це може свідчити про перебудову метаболізму в бік сповільнення катаболічних реакцій у тканинах.

Необхідно зазначити, що вірогідне зниження рівня глюкози в плазмі крові плітки, можливо, пов'язане з використанням цього субстрату на процеси енергозабезпечення адаптації до зростання температури. За вмістом кортизолу в плазмі крові цього виду очевидно, що розвивається стрес-реакція, яка супроводжується мобілізацією енергетичних ресурсів.

Короп та окунь активніше залучають аеробні процеси енергозабезпечення на пристосування до змін температурних умов, тоді як у плітки зафіксовано розвиток гіпоксичного стану тканин. Варто відмітити, що підвищення температури води спричиняє реорганізацію компонентів аденілатного пулу тканин досліджених видів риб. У коропа функціонування процесів окиснювального фосфорилування практично не порушується із підвищенням температури води, тоді як окунь та плітка частіше використовують менш ефективне субстратне фосфорилування. При цьому в окремих тканинах плітки був відмічений розвиток гіпоенергетичного стану.

Цікавим є те, що за підвищених температур коропа та окуня накопичують глікоген у печінці, що може бути результатом активації глікогенезу. Не виключено також, що підвищена температура може інгібувати ферментативну систему процесу глікогенолізу у зазначених видів, в результаті чого

накопичується цей субстрат. Значне зменшення кількості глікогену в печінці плітки може бути наслідком його включення в процеси енергетичного обміну.

МІНЕРАЛІЗАЦІЯ

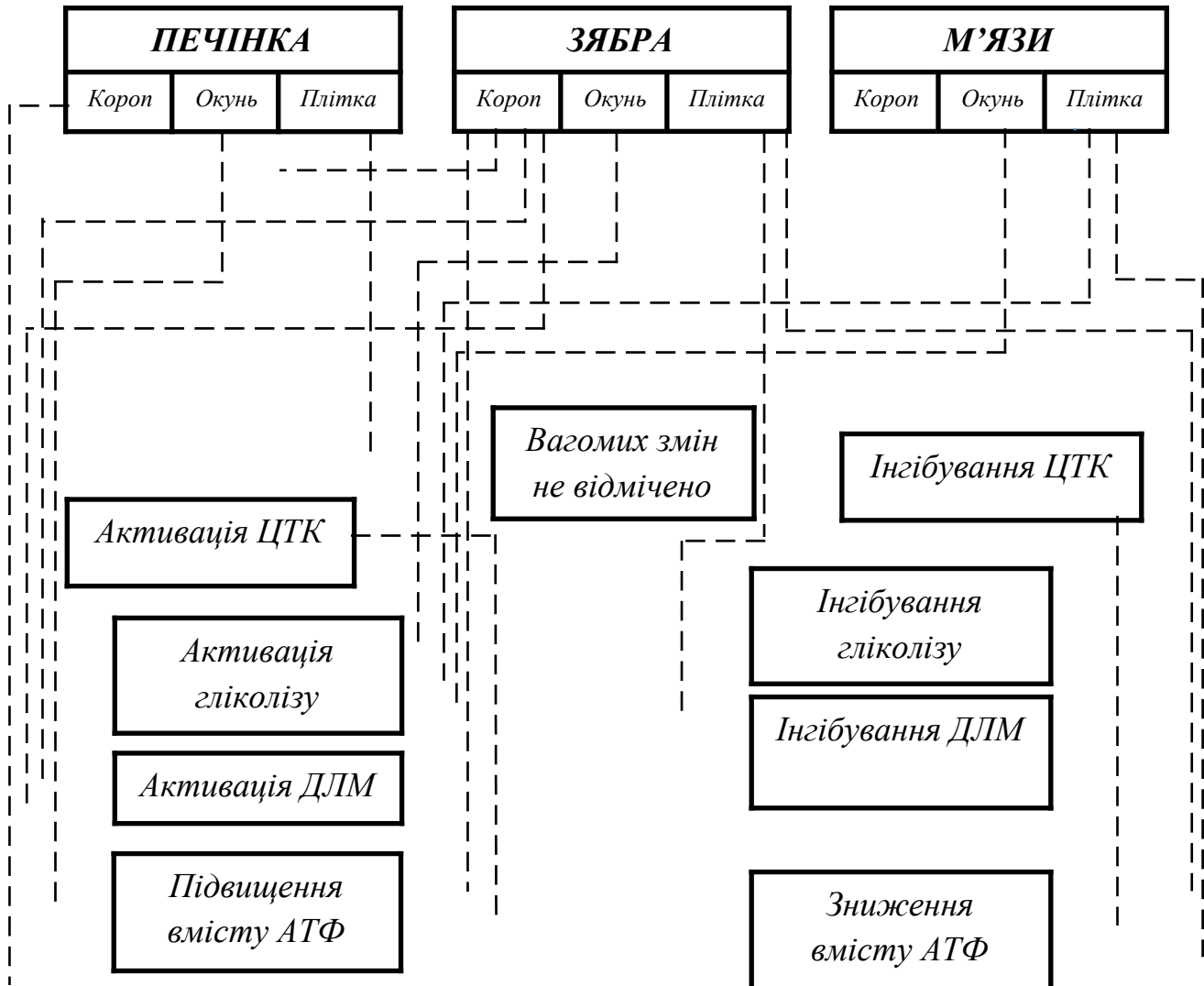


Рис. 5. Схема змін функціонування основних шляхів генерування енергії в тканинах риб при адаптації до підвищеної мінералізації води.

Примітка: ЦТК – цикл трикарбонних кислот; ДЛМ – дихальний ланцюг мітохондрій

За дії підвищеної мінералізації води реакція риб дещо відрізняється. Оцінюючи всі визначені нами критерії, її варто вважати також видоспецифічною. Збільшення концентрації йонів у воді викликає в організмі риб реорганізацію осморегуляційних процесів, що в більшості випадків проявляється в активації або інгибуванні основних шляхів генерування енергії.

Встановлені нами основні закономірності функціонування енергетичного обміну в тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води наведено на рис. 5.

Гідрологічний та гідрохімічний режими водойм, які змінюються в результаті їх антропогенного забруднення, істотно впливають на фізіологічний стан риб.

У весняний період надмірне антропогенне навантаження на оз. Кирилівське викликає перебудову енергетичних процесів у риб, результатом чого є сповільнення катаболічних реакцій в їх тканинах. Також у цей період спостерігається підвищення вмісту кортизолу в крові окуня та плітки. Цікаво також те, що весною відмічено нижчий вміст тироксину та трийодтироніну в крові окуня із оз. Кирилівське порівняно із оз. Бабине, що, ймовірно, спричинене коливаннями кисневого та температурного режиму під час нересту.

Підвищення вмісту тироксину у плітки та суми тиреоїдних гормонів у окуня за дії посиленого антропогенного навантаження у літній період свідчить про зростання негативної дії токсичних речовин на фізіологічний стан риби по мірі підвищення температури води. Це пов'язано із прискоренням процесів генерування енергії в організмі внаслідок зростання активності окисно-відновних реакцій, а також різним ступенем споживання кисню тканинами за ускладнених умов існування.

В організмі риби із забрудненого озера енергозатратні процеси влітку домінують над енергогенеруючими. Підтвердженням цього може слугувати значне зниження активності СДГ та ЦО в тканинах окуня з оз. Кирилівське в літній період. Подібну ситуацію також відмічено в зябрах плітки із цього озера. Це вказує на пригнічення аеробних процесів в результаті впливу токсикантів, внаслідок чого генерується недостатня кількість енергії для забезпечення процесів їх детоксикації.

Зміни вмісту та співвідношення аденілових нуклеотидів вказують на те, що у риби із забрудненого озера процеси гідролізу АТФ та АДФ переважають їх синтез. В результаті цього аденілатний пул у тканинах переважно представлений АМФ. Динаміка основних біоенергетичних коефіцієнтів вказує на те, що в тканинах окуня та плітки з оз. Кирилівське у літній та осінній період енергозатратні процеси домінують над енергогенеруючими. Подібні зміни є практично протилежними порівняно з рибами з контрольного озера та можуть бути своєрідним механізмом забезпечення процесів адаптації та детоксикації.

Таким чином, аналіз впливу таких абіотичних чинників, як підвищена температура та мінералізація води, а також надмірне антропогенне забруднення водойм на стан енергетичного обміну, свідчить про видоспецифічну реакцію риби. У певному діапазоні чинників зафіксовано адаптивні реакції, які проявляються в активації метаболічних процесів спочатку, та їх інгібуванні за більш інтенсивного впливу несприятливих умов. Найбільший адаптивний потенціал виявляв короп, але окунь та плітка також мають своєрідні компенсаторні механізми. Однак можна передбачити, що сумісна надмірна дія досліджуваних чинників може мати летальні наслідки для риби.

ВИСНОВКИ

В результаті вивчення особливостей накопичення гормонів у плазмі крові, формування співвідношення аденілових нуклеотидів, активності ферментів енергетичного обміну а також кількості основних енергетичних субстратів у тканинах коропа, окуня та плітки в процесі адаптації до підвищення температури й мінералізації води та її надмірного антропогенного

забруднення встановлено, що досліджувані види риб залучають альтернативні шляхи енергозабезпечення тканин.

На підставі отриманих даних можна сформулювати наступні висновки:

1. Короп компенсує дію підвищення температури води з 24 °С до 34 °С шляхом сповільнення активності метаболічних реакцій в тканинах за рахунок зменшення вмісту тиреоїдних гормонів в плазмі крові в 1,5–1,9 рази. Водночас, плітка значно активує метаболічні процеси, внаслідок чого розвивається стрес–реакція, збільшується вміст тироксину, трийодтироніну та кортизолу у плазмі крові в 3,8, 2,6 та 2,1 рази відповідно. Для окуня адаптивні межі за вмістом гормонів знаходяться в діапазоні температури 24–26 °С.
2. За коливань температури у 7–8 °С протягом доби в тканинах плітки значно інгібується аеробне дихання, енергетичний обмін переважно функціонує через гліколіз, що підтверджується суттєвим зниженням активності сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази та підвищенням активності лактатдегідрогенази в зябрах і м'язах. У тканинах коропа та окуня відбувається активація аеробного генерування енергії.
3. У процесі адаптації до підвищення температури води від 24°С до 34°С та її коливань протягом доби на 2–8 °С, у всіх досліджуваних видів риб енергозатратні процеси домінують над енергогенеруючими, що підтверджується зниженням вмісту АТФ та збільшення частки АМФ в аденілатному пулі.
4. При підвищенні мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ у зябрах коропа та окуня, на відміну від плітки, значно активуються йонообмінні процеси з вірогідним зростанням АТФ-азної активності. Основним шляхом генерування АТФ у коропа є аеробне дихання при збільшенні активності СДГ та ЦО, окунь та плітка застосовують гліколіз, на що вказує пригнічення активності ферментів аеробного дихання та підвищення активності ЛДГ.
5. Плітка виявляє найменший адаптивний потенціал до дії підвищеної мінералізації води, свідченням чого є зниження вмісту АТФ в її м'язах та зябрах у 1,7 і 1,8 рази відповідно, зростання частки АМФ та зменшення величини аденілатного енергетичного заряду за мінералізації води 2,0 г/дм³.
6. При адаптації до підвищення мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ окунь та плітка активно використовують глікоген на забезпечення енергетичних потреб, його вміст у печінці знижується у 1,6–2,5 рази. Крім того, плітка залучає також білки, що призводить до істотного зменшення їх кількості у тканинах.
7. У відповідь на антропогенне забруднення водойми спостерігається перерозподіл тиреоїдних гормонів та кортизолу у крові окуня та плітки. Підвищення їх вмісту в окремі сезони свідчить про інтенсифікацією генерування енергії в тканинах риб внаслідок підвищення активності окисно-відновних реакцій.
8. В процесі адаптації риб до дії антропогенного забруднення процеси гідролізу АТФ та АДФ у тканинах переважають над їх синтезом. В

результаті, аденілатний пул у тканинах риб переважно представлений низькоенергетичним фосфатом, що підтверджується низькою величиною аденілатного енергетичного заряду порівняно з рибами із умовно чистих водойм.

9. На надмірне антропогенне забруднення води в комплексі із підвищенням її температури риби реагують збільшенням вмісту глікогену у печінці, що може бути складовою адаптивних механізмів протидії гіпоксичним умовам.
10. Найбільш значну перебудову енергетичного обміну в організмі риб спричиняє підвищення температури води, при цьому плітка відзначається найменшою резистентністю до цього чинника.
11. Оскільки зростання температури та підвищення мінералізації води стимулюють у тканинах риб (більшою мірою, окуня та плітки) активацію гліколізу та пригнічення аеробного дихання, то їх сумісна дія може призвести до вичерпання всіх енергетичних ресурсів та спричинити зниження життєстійкості риб.
12. Забруднення водного середовища порушує формування адаптивних реакцій риб, підвищення температури води та зміна її мінералізації в літній період ускладнює енергетичний обмін в організмі риб, що призводить до активізації альтернативних шляхів енергозабезпечення в окуня та плітки.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових виданнях:

1. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зіньковський О.Г. Адаптивна біохімічна відповідь коропа та окуня на дію підвищеного температурного режиму води // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2017. № 1. С. 83–89 (*Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті*);
2. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Фізіолого-біохімічні особливості пристосування окуня річкового та коропа звичайного до дії підвищеної температури води // Гідробіологічний журнал. 2017. Т.53, №4. С. 66–75. (*Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті*);
3. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г., Причепа М. В. Фізіолого-біохімічний статус окуня річкового (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) в умовах надмірного антропогенного навантаження на водойму // Рибогосподарська наука України. 2017. Т.42, №4. С. 99–111. (*Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті*);
4. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Особливості енергозабезпечення тканин коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.) за дії підвищеної температури води // Науковий вісник НУБП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2017. №270. С. 114–127. (*Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті*);
5. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г., Причепа М. В., О. М. Водяницький. Вміст тиреоїдних гормонів, кортизолу та глюкози у плазмі крові як показники видоспецифічної біохімічної відповіді риб на дію підвищеної мінералізації води // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2017. № 4. С. 71–77. (*Проведення експериментів, обробка матеріалу, участь в обговоренні результатів і написанні статті*);
6. Martseniuk V. M., Potrokhov O. S., Zinkovskiy O. G. Energy Metabolism in Organs and Tissues of Perch *Perca fluviatilis* under Changes of Water Temperature // Hydrob. J. 2018. Vol. 54, 4. P. 85–94. (*Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті*)

Матеріали та тези конференцій:

1. Марценюк В.М. Активність аденозинтрифосфатази як показник адаптивної відповіді риб на дію підвищеної температури води. Біологічні дослідження 2017: матеріали III всеукр. наук.-практ. конф., м. Житомир, 14–16 березня 2017 р. Житомир, 2017. С. 132–133.
2. Марценюк В.М. Гормональна відповідь коропа звичайного та окуня річкового на дію підвищеної температури води. Тернопільські біологічні читання: матеріали всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 20–22 квітня 2017 р. Тернопіль, 2017. С. 136–139.
3. Марценюк В.М. Життєстійкість коропа звичайного за дії підвищеної температури води. Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: матеріали III наук.-практ. конф. для молодих вчених, м. Київ, 6–7 жовт. 2016 р. Київ, 2016. С. 20–23.
4. Марценюк В.М. Гормональний статус окуня річкового та плітки звичайної за умов надмірного антропогенного навантаження на водойму. Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпро, 12–15 вересня 2017 р. Дніпро, 2017. С. 61–64.
5. Марценюк В.М. Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах коропа *Syrprinus carpio* L. за дії підвищеної температури води. Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 19–21 вересня 2017 р. Київ, 2017. С. 208–213.
6. Марценюк В.М. Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах окуня річкового *Perca fluviatilis* L. за дії підвищеної температури води. Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: матеріали IV наук.-практ. конф. для молодих вчених, присвяч. 100-річчю НАНУ, м. Київ, 6–7 листопада. 2017 р. Київ, 2017. С. 41–43.

ПОДЯКА

Автор висловлює щирю вдячність науковому керівнику д.б.н., с.н.с. О.С. Потрохову, к.б.н., с.н.с. О.Г. Зіньковському, к.б.н., с.н.с. Ю.М. Худіяшу, к.б.н., н.с. М.В. Причепі, к.б.н., м.н.с. О.М. Водяніцькому та д.б.н., проф. О.М. Арсану за надання цінних порад, консультацій та допомогу в обробці зібраного матеріалу.

Анотація

Марценюк В.М. Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) зі спеціальності 03.00.10 «Іхтіологія». – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2019.

На підставі вивчення фізіолого-біохімічних показників встановлено видоспецифічні реакції коропа, окуня та плітки на дію підвищеної мінералізації й температури води, а також її забруднення токсикантами антропогенного походження. Показано, що ці види риб залучають різні компенсаторні механізми на протидію несприятливим чинникам. Особливу роль в адаптації відіграє активація альтернативних шляхів генерування енергії.

Отримано дані щодо гормонального та ферментативного регулювання процесів енергетичного обміну у риб за зміни температури та мінералізації води. Оцінено біоенергетичний стан риб за вмістом аденілових нуклеотидів за впливу абіотичних та антропогенних чинників. Встановлено сезонні особливості енергетичного обміну риб за дії антропогенного забруднення водойми. Показано, що плітка є менш пластичним видом порівняно з коропом та окунем за змінами вмісту аденілових нуклеотидів та динамікою різних біоенергетичних індексів під дією абіотичних чинників, зокрема підвищеної температури та мінералізації води.

Підтверджено, що короп на протидію підвищеній температурі води активує процеси циклу трикарбонових кислот у тканинах, а окунь та плітка – анаеробного дихання.

Отримані результати можуть знайти застосування при прогнозуванні промислових запасів та рибопродуктивності водойм. Показники енергетичних індексів та вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах риб можна використовувати при нормуванні скидів стічних вод з метою запобігання негативним наслідкам для популяцій.

Ключові слова: риби, абіотичні чинники, антропогенні чинники, температура води, мінералізація води, АТФ, АДФ, АМФ, ЛДГ, СДГ, ЦО, АТФ-азна активність, білок, глікоген, глюкоза.

Аннотація

Марценюк В.Н. Особенности регуляции энергообеспечения адаптации рыб к действию абиотических и антропогенных факторов. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.10 «Ихтиология». - Институт гидробиологии НАН Украины, Киев, 2019.

На основании исследования физиолого-биохимических показателей выявлены видоспецифические реакции карпа, окуня и плотвы в ответ на влияние повышенной минерализации и температуры воды, а также ее антропогенного загрязнения. Показано, что эти виды рыб привлекают различные компенсаторные механизмы для противодействия неблагоприятным факторам. Особую роль в адаптации играет активация альтернативных путей генерирования энергии.

Получены данные по гормональному и ферментативному регулированию процессов энергетического обмена у рыб при изменении температуры и минерализации воды. Оценено биоэнергетическое состояние рыб по содержанию адениловых нуклеотидов в условиях влияния абиотических и антропогенных факторов. Установлены сезонные особенности энергетического обмена рыб под влиянием антропогенного загрязнения. Судя по изменению содержания адениловых нуклеотидов и динамике различных биоэнергетических индексов под действием абиотических факторов, в частности повышенной температуры и минерализации воды, плотва является менее пластичным видом по сравнению с карпом и окунем.

Подтверждено, что карп, противодействуя влиянию повышенной температуры воды, активизирует процессы цикла трикарбоновых кислот в тканях, а окунь и плотва – анаэробного дыхания.

Полученные результаты могут найти применение при прогнозировании промышленных запасов и рыбопродуктивности водоемов. Величины энергетических индексов и показатели содержания адениловых нуклеотидов в тканях рыб можно использовать при нормировании сбросов сточных вод, во избежание негативных последствий для их популяций.

Ключевые слова: абиотические факторы, антропогенные факторы, температура воды, минерализация воды, АТФ, АДФ, АМФ, ЛДГ, СДГ, ЦО, АТФ-азная активность, белок, глікоген, глюкоза.

SUMMARY

Martseniuk V. Features of the regulation of energy supply of fish adaptation to the action of abiotic and anthropogenic factors. – The manuscript.

The thesis for a scientific degree of the biological sciences candidate (Doctor of Philosophy) in specialty 03.00.10 "Ichthyology". – Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2019.

Based on the study of physiological and biochemical indicators of fish defined that specific reactions of carp, perch and dace species on the effect of high mineralization and temperature of water, as well as its pollution with toxicants of anthropogenic origin. It is shown that these types of fish, involve various compensatory mechanisms for counteraction to unfavorable factors, with the most significant restructuring of the energy exchange in the body of fish that causes by increasing of water temperature.

A special role in this adaptation is played by the activation of alternative ways of energy generation. Hormonal and enzymatic regulation data were obtained during the processes of fish energy exchange due to changes in temperature and mineralization of water. Investigation results indicate that the primary reaction of different fish species to the increasing the temperature of the water effect, may vary significantly.

At the same time, the water temperature rises above the zone of fish tolerance, the functioning of energy metabolism in their body deteriorates that due to the long duration of this factor leads to energy depletion. So, in the carp there is a gradual decrease in the content of thyroxine and triiodothyronine in plasma due to the water increase up to 34°C. It should be assumed that the reason for such changes is slow down of catabolic processes in the carp organism. Proportional increase in the content of T4 and T3 in plasma blood of dace with increasing water temperature indicates the activation of exchange processes aimed at counteraction an unfavorable factor, as well as some suppression of the mutual conversion of these hormones. A number of authors associate such changes with the inactivation of the respiratory chain of mitochondria that complicates the process of overcoming the negative effects of high water temperatures, as well as compensation of hypoxic tissue condition. The content of thyroid hormones in the plasma of the perch shows acceleration energy consumption in its body initially, and in the future - activation of energy generators processes with increasing of the temperature. As with carp, this may indicate a rebuild metabolism toward slowing down of catabolic reactions in tissues.

It should be pointed that the probable reducing in blood glucose levels of dace's blood plasma due to increasing of water temperature, may coincide with the use of this substrate on the processes of energy supply adaptation to temperature rise. According to cortisol content indicators in the blood plasma of this species is an evidence that develops a stress reaction, which accompanied by the mobilization of energy resources.

The bioenergetic status of fish based on the content of adenyl nucleotides influence was evaluated with the abiotic and anthropogenic factors. Defined seasonal features of power exchange of fish for the effects of anthropogenic pollution of the reservoir. Found (appeared) that in the process of adaptation fish to the action of anthropogenic pollution processes of hydrolysis of ATP and ADP in tissues, predominate over their synthesis. As a result, adenylate pool in fish tissues is predominantly represented by low-energy phosphate, which is confirmed by a low value of adenylate energy charge.

It is shown that dace is the least flexible species compared to the carp and perch according to changes in the content of adenyl nucleotides and the dynamics of various bioenergetic indices under the action of abiotic factors, particularly, the high temperature and mineralization of water.

Decrease the content of glycogen in the liver and the amount of proteins in the dace tissue for increasing water mineralization also points out to the least adaptive potential of this species. For increasing mineralization of water from 0,5 to 2,0 g/dm³ in carp and perch gill, unlike dace, ion-exchange processes significantly grow in ATP activity. The main way of generating ATP in carp is aerobic respiration with increased activity of SDH and CO, perch and dace used glycolysis, as indicated by inhibition of activity of aerobic respiration enzymes and increase of activity of LDH.

It is confirmed that the carp against to the high temperature of the water activates the processes of a cycle of tricarboxylic acids in tissues, perch and dace - anaerobic breathing. It is predicted that the combined effect of the investigated factors can lead to critical exhausting of energy resources of poorly adapted fish species, and lead to a decrease of their viability.

The received results can be used in industrial forecasting stocks and fish productivity of reservoirs. Indicators of energy indexes and content of adenyl nucleotides in fish tissues, can be used to normalize sewage discharges, in order to prevent negative impacts on it's populations.

Keywords: *abiotic factors, anthropogenic factors, water temperature, water salinity, ATP, ADP, AMP, LDH, SDH, CO, ATP-ase activity, protein, glycogen, glucose.*