

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ

ВОДЯНИЦЬКИЙ
Олександр Михайлович

УДК 591.3:597.55.2 (574.2:577.151)

**МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
ЕМБРІОГЕНЕЗУ РИБ ПРИ РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВАХ ВОДНОГО
СЕРЕДОВИЩА**

03.00.10 – іхтіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Інституті гідробіології НАН України м. Київ.

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
Курант Володимир Зіновійович,
Тернопільський національний педагогічний
університет ім. Володимира Гнатюка,
професор кафедри хімії та методики її навчання

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

Захист відбудеться 26 жовтня 2018 р. об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.26.213.01 Інституту гідробіології НАН України за адресою: 04210, м. Київ, пр. Героїв Сталінграда, 12.

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

Автореферат розісланий “20” вересня 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,

Кірпенко Н.І.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Різке коливання абіотичних чинників водного середовища спричиняє негативну дію на рибу на всіх етапах її розвитку. Ікра та личинки через те, що їх системи захисту знаходяться на стадії розвитку і вони не мають можливості покинути ділянки з несприятливими умовами та зони забруднення, найбільш вразливі до їх дії. Нехарактерні температури, істотні зміни газового режиму викликають порушення поділу клітин, процесів диференціації органів та тканин, різноманітні ембріопатії та змінюють перебіг метаболічних процесів у ембріонів риби (Вовк, 1974; Константинов, 1993; Журавлєва, 2009; Лукиянов, 2010). Тератогенез у риби спостерігається під дією широкого спектру чинників водного середовища, викликаючи суттєве зниження життєздатності ембріонів, та в багатьох випадках негативно впливає на відтворення природних популяцій риби або на результати штучного її розведення (Herzig, 1986; Константинов, 1997; Urho, 1996; Иванова, 2001; Белоусов, 2005; Schaefer, 2006; Капшай, 2011). Дослідження впливу зміненого температурного режиму водойми на життєдіяльність риби почались у зв'язку з тепловим забрудненням води, викликаним роботою енергетичних об'єктів. В багатьох річках температура води збільшилась на 4–5°C, що суттєво змінило умови існування риби. Аналогічно діють зміни клімату, які спостерігаються останнім часом (Hochachka, 2002; Романенко, 2004; Janauer, 2012).

Як і інші пойкилотермні тварини, риби істотно залежать від температури навколишнього середовища. У більшості риби температура тіла всього на 0,5–1,0°C відрізняється від температури води (Зданович, 1997; Новиков, 2000; Дгебуадзе, 2001). Саме температура в значній мірі регулює інтенсивність обміну речовин, темпи розвитку риби. В межах певного діапазону часто спостерігається пряма залежність між швидкістю розвитку ембріонів та зміною температури. Поряд з пристосованістю риби до певних величин температури, досить велике значення має і амплітуда її коливань, при якій можуть жити одні і ті ж види (Шатуновский, 2001; Детлаф, 2001; Немова, 2004; Carter, 2009; Вербицкий, 2008).

У сучасних літературних джерелах вказано, що низка абіотичних чинників має ембріотоксичну дію, яка проявляється в уповільненні ембріогенезу риби, появі аномальних зародків, зниженні темпів росту та швидкості витрати жовткових мас, зміні інтенсивності газообміну та кровотворення, виникненні патології в органах та тканинах (Dalla, 1994; Gracey, 2001; Nilsson, 2004; Roesner, 2006; Капшай, 2011).

Здатність риби жити в певному температурному інтервалі є еволюційно сформованою адаптацією до температурного режиму оточуючого середовища тої або іншої групи риби. Проте, поряд з адаптацією до термічних умов окремої водойми, особливо важливе значення має їх здатність протидіяти різким короткочасним або тривалим змінам температури (Hochachka, 2002; Janauer, 2012;). У зв'язку з цим проводяться експериментальні дослідження стійкості риби до високих та низьких (граничних) температур, а також акліматії риби до підвищених або знижених температур (Шатуновский, 2001; Немова, 2004; Carter, 2008; Вербицкий, 2008).

Отже, вивчення впливу абіотичних чинників на ранні етапи розвитку живих організмів є необхідною умовою для обґрунтування безпечних рівнів змін

екологічних чинників та буде сприяти прогнозуванню стану риб на нерестовищах, й відповідно розробки методів, спрямованих на підвищення рибопродуктивності як в природних водоймах, так і у системах аквакультури.

Зазначені проблемні питання були покладені в основу цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України: «Фізіолого-біохімічні та цитогенетичні механізми пристосування риб та безхребетних до несприятливих змін екологічних чинників» (№ держреєстрації 0113U001581), «Механізми функціонування прісноводних екосистем та адаптації гідробіонтів до дії абіотичних факторів в умовах глобальних кліматичних змін» (№ держреєстрації 0112U002183).

Мета і завдання дослідження. Метою досліджень було встановлення впливу абіотичних чинників водного середовища та їх природних коливань на ранні етапи ембріонального розвитку риб та оцінка ступеню їх дії за анатомічними, морфологічними, біохімічними та генетичними показниками.

Реалізація мети здійснювалась вирішенням наступних задач:

1. Встановити та систематизувати основні анатомічні ознаки ембріопатій риб за дії абіотичних чинників, зокрема температури води та концентрації розчиненого кисню;
2. Вивчити залежність між життєздатністю та наявністю патології ембріонів і дією ушкоджуючих чинників;
3. Визначити цитогенетичний вплив температури, газового режиму за показниками кількості мікроядер в клітинах ембріонів та личинок на різних стадіях розвитку корошових та окуневих видів риб;
4. Вивчити зміни фізіолого-біохімічних показників ембріонів та личинок риб за дії абіотичних чинників водного середовища;
5. Дослідити адаптивні реакції ембріонів та личинок риб на зміну чинників навколишнього середовища.

Об'єкт дослідження – ікра на різних стадіях ембріонального розвитку та личинки окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.), плітки (*Rutilus rutilus* L.), йоржа звичайного (*Gymnocephalus cernuus* L.), коропа (*Cyprinus carpio* L.), білого амура (*Ctenopharyngodon idella* Val.), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) та плідники краснопірки (*Scardinius erythrophthalmus*, L.).

Предмет дослідження – біологія та ранній ембріогенез риб за дії абіотичних чинників водного середовища.

Методи дослідження. Іхтіологічні, ембріологічні, цитологічні, фізіологічні, біохімічні та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі оцінки морфологічних, цитологічних, фізіологічних та біохімічних показників ембріонів та личинок корошових і окуневих риб вперше обґрунтовано безпечні рівні змін екологічних чинників на нерестовищах природних водойм. Отримано нові дані щодо впливу значних коливань абіотичних чинників водного середовища на ембріональний розвиток аборигенних видів риб та їх масо-розмірні характеристики. Показано, що абіотичні чинники володіють потужним тератогенним ефектом на ембріонів та

личинок риб. Вперше встановлено основні закономірності змін величин загально-біохімічних показників та активності ферментів енергетичного та пластичного обміну при підвищеній температурі води та зниженій концентрації розчиненого кисню. Вперше науково обґрунтовано оптимальний рівень температури води для нормального ембріонального розвитку риб, а саме: для коропа – 20–24°C, білого товстолобика – 25–28°C, білого амура – 21–29°C, йоржа – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плітки – 15–17°C. Ці оптимальні температурні умови для ембріогенезу риб дійсні лише при достатній концентрації розчиненого кисню у воді (не нижче 5 мг/дм³). При зниженій концентрації кисню у воді оптимум температури зменшується. Встановлено, що переважання оптимальних величин температури води на нерестовищах в період масового нересту різних видів риб може призвести до зниження життєстійкості ембріонів риб та загалом до зменшення ефективності їх відтворення і рибопродуктивності водойм.

Отримані нові дані щодо застосування цитогенетичних, морфологічних та біохімічних показників ембріонів та личинок риб для оцінки негативного впливу екологічних чинників водного середовища.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати обґрунтовують безпечні рівні змін екологічних чинників водного середовища для ембріонального розвитку риб. На підставі проведених досліджень можна оцінити ефективність нересту на нерестовищах та дати прогноз рибопродуктивності природних водойм на наступні роки. Визначені оптимальні рівні температури води та межі її коливань, вмісту розчиненого кисню можна застосовувати при відтворенні аборигенних видів риб в штучних умовах.

Рекомендовано використання ікри білого товстолобика та білого амура, що розвивається, для оцінки якості водного середовища та впливу екологічних чинників за показниками кількості мікроядер в клітинах, ступеню аномального розвитку ембріонів та активності ферментів енергетичного комплексу.

Зазначені дані можуть також бути використані в учбовому процесі при викладанні дисциплін іхтіологічного, фізіологічного, біохімічного та екологічного змісту на факультетах природничого профілю.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертації сумісно з науковим керівником розроблено програму та методологію досліджень. Автор дисертації самостійно здійснював підбір та обробку літературних джерел, виконав експериментальні дослідження. При спільному виконанні експериментів з співробітниками відділу біології відтворення риб Інституту гідробіології НАН України співвиконавці приводяться як співавтори відповідних публікацій. Друковані роботи підготовлені безпосередньо автором, частина робіт в співавторстві з наступним обговоренням з співробітниками. Автором самостійно проведено аналіз первинного матеріалу, сформульовано положення та висновки роботи, а аналіз загальних положень та стратегію викладення матеріалу в дисертації проведено разом з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на наступних міжнародних конференціях: Науково-практичній конференції для молодих вчених, присвяченій 95-річчю НАН України «Актуальні

проблеми сучасної гідроекології» (Київ, 2013); VII Міжнародній іхтіологічній науково-практичній конференції, присвяченій 140-річчю Херсонського державного аграрного університету «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології» (Мелітополь-Бердянськ, 2014); I Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України» (Дніпропетровськ, 2014); Науково-практичній конференції, присвяченій 75-річчю заснування Інституту гідробіології НАН України «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів і докторантів «Екологічні проблеми сучасного світу та шляхи їх вирішення. Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (Біла Церква, 2015); Державній науково-практичній конференції «Екологічні проблеми України та шляхи їх вирішення» (Біла Церква, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів і докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (Біла Церква – 2016); Науково-практичній конференції молодих вчених «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2016); IX міжнародній іхтіологічній науково-практичній конференції Одеського державного екологічного університету «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології» (Одеса, 2016); Державній науково-практичній конференції «Аграрна наука – виробництву» (Біла Церква, 2016); II Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем» (Дніпро, 2017).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 19 наукових праць, з яких 6 – у фахових виданнях, 2 – у збірниках наукових праць; 11 – у матеріалах та тезах конференцій.

Структура та обсяг роботи. Дисертаційну роботу викладено на 209 сторінках друкованого тексту. Вона складається зі вступу, аналітичного огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 4 розділів власних досліджень з обговоренням і узагальненням одержаних результатів, висновків і списку використаної фахової літератури. Текст ілюстровано 64 рисунками і 6 таблицями. Список використаної фахової літератури містить 249 джерел, із них 92 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ВПЛИВУ АБІОТИЧНИХ ТА АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ

Автором проведено аналіз даних, наявних у фаховій літературі, щодо дії абіотичних чинників на ікру, ембріони та личинки риб, основним наслідком чого є зменшення виживаності, збільшення кількості аномалій розвитку та зміна масо-розмірних характеристик, що позначається на ефективності відтворення аборигенних видів риб на природних нерестовищах. Розглянуті основні морфологічні, анатомічні, фізіолого-біохімічні та генетичні особливості механізмів адаптації різних видів риб до впливу чинників водного середовища. Виокремлено

найбільш показові фізіологічні, анатомічні, цитологічні та біохімічні показники, які використовуються в сучасних іхтіологічних та біохімічних дослідженнях риб.

Детально розглянуто характер змін активності ферментів енергетичного та пластичного обміну, вміст запасних сполук у тканинах, коливання кількості мікроядер в клітинах за різних умов існування. На підставі сказаного зазначено, що одним із пріоритетних напрямків іхтіології є дослідження ферментативної регуляції адаптивних процесів аборигенних видів риб, зокрема представників родини коропових та окуневих, до дії різноманітних чинників водного середовища. Це дає змогу уточнити, поглибити та систематизувати існуючу інформацію стосовно адаптивних реакцій організму риб до змін екологічних умов їх існування на фізіологічному, біохімічному та генетичному рівнях.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводилися на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України протягом 2013–2016 рр. Біологічним матеріалом досліджень були ікра, ембріони та личинки окуня річкового, плітки, йоржа звичайного, коропа та плідники (3–4 річного віку) краснопірки. Саме ці види риб є представниками місцевої іхтіофауни. Як найбільш чутливі тест-об'єкти для вивчення дії абіотичних чинників водного середовища досліджували ікру, ембріони та личинки білого амура та білого товстолобика.

Нами були обрані три водойми (ставки), які через особливості свого розташування та ступеню затінення відрізнялися за температурними умовами, а завдяки цьому і кисневим режимом. Це особливо важливо, оскільки через кліматичні зміни саме ці показники будуть найбільш мінливі. Температуру води вимірювали ртутним термометром щодоби о 4, 12 та 20 год і по мірі проходження ембріональних стадій розвитку піддослідних риб. Вміст розчиненого кисню вимірювали о 4 год ранку методом Вінклера (Culberson, 1991). Всі дослідні водойми наповнювалися водою з Середнього Білоцерківського водосховища (р. Рось).

Дослідження проводилися протягом квітня-травня, коли відбувається нерест окуня, плітки, коропа та йоржа у природних водоймах, та протягом червня, що характерно для нересту білого амура та білого товстолобика. Штучно запліднена ікра піддослідних видів риб розміщувалася в сітчастих контейнерах ($S_{\text{конт.}}=169 \text{ см}^2$) у водоймі та підлягала дії всього комплексу екологічних умов водного середовища. Ікру всіх видів риб відбирали від трьох різних самок і в трьох повторностях розміщували в водоймах. Середня кількість ікринок в кожному сітчастому контейнері досягала 100–150 шт. По досягненню ікрою певних стадій розвитку – кінець гастрюляції, очні бокали, пігментації для коропа або рухливого ембріону для білого амура та білого товстолобика, її відбирали та заморожували в морозильній камері при -18°C . Після закінчення нересту риб зібрані проби пакували в портативну морозильну сумку, оснащену холододими елементами та транспортували в лабораторію для подальших біохімічних досліджень.

Для проведення цитогенетичного аналізу зразки ікри риб фіксували в двох змінах свіже приготованої та охолодженої суміші етилового спирту і оцтової кислоти (3:1) по 30 хв кожна в об'ємі, який в 50–100 раз перевищує об'єм

фіксованого матеріалу. Для аналізу з кожного зразка брали 10–15 ікринок. Механічна мацерація продовжувалася 5–10 хв, хімічна в 45% розчині оцтової кислоти – 40–50 хв. Повітряно-сухі препарати фарбували 50% розчином нітрату срібла в термостаті при 58–60°C протягом 5–6 хв до отримання коричневого кольору, дофарбовували 2% розчином Гімза в фосфатному буфері (pH=6,8) протягом 1 хв (Архипчук, 1987; Howel, 1980). Число мікроядер підраховували у кожному зразку у 500–700 клітинах з використанням окулярів $\times 16$, об'єктивів $\times 100$ мікроскопа Carl Zeiss та вимірювали їх діаметр окуляр-мікрометром у 100 клітинах при тому же збільшенні об'єктиву.

Активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) визначали з використанням набору реактивів «ЛДГ» (Філісіт-Діагностика, Україна). Активність сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.5.1) – за Вексеем (Северин, 1989). Активність Na, K-активуємої, Mg-залежної АТФ-ази (КФ 3.6.1.4) встановлювали за приростом вмісту неорганічного фосфору в середовищі інкубації за методом М.Н. Кондрашової та ін. (Асатиани, 1965; Кондрашова, 1965). Активність протеаз (КФ 3.4) встановлювали імуноферментним методом за Тюриним та ін. (Тюрин и др., 2009). Вміст глікогену (мг/г) – за допомогою антронового реагенту, вміст загальних білків (мг/г) – по Лоурі (Асатиани, 1965, 1969), вміст ліпідів (мг/г) визначали, використовуючи стандартні комерційні набори «Загальні ліпіди» (Філісіт-Діагностика, Україна).

Отримані дані оброблені статистично за допомогою програми Statistica 5.5, Eraprobit analysis program used for calculating LC/EC values (Version 1.5).

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ВИЖИВАНІСТЬ, РОЗВИТОК ТА ЦИТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОНІВ ТА ЛИЧИНОК РИБ

Нами були проведені дослідження по визначенню впливу різних температурних умов на проходження ембріонального розвитку корошових та окуневих риб. Слід зазначити, що температура води в дослідних водоймах істотно коливалася протягом доби, а в передранкові години при підвищеній температурі знижувалася концентрація розчиненого кисню у воді.

Запліднена ікра підлягала впливу різних температурних та кисневих режимів. Для порівняння частину ікри розміщували в стаціонарних умовах (Середнє Білоцерківське водосховище, р. Рось) з досить постійною температурою води та концентрацією кисню (умовний контроль).

Під час проведення досліджень на ікрі коропа середньодобова температура води відрізнялася у досліджених водоймах на 0,5–0,8°C (рис. 1). При цьому в ранкові та вечірні години різниця за температурою збільшувалася до 1,0–1,2°C. Протягом досліджень спостерігалася коливання температури води у всіх водоймах від 18,8 до 32,2°C. В стаціонарних умовах температура води перебувала на рівні 20,8–23,5°C.

У найбільш прогрітій водоймі на 4 год. ранку на нерестовищах відмічалася суттєве зниження вмісту кисню у воді до 2,5–3,6 мг/дм³ (рис. 2) (температура води – 19,6–24,1°C). У водоймі з середнім температурним режимом вміст кисню знижувався до 2,7–4,1 мг/дм³ (температура води – 19,3–23,3°C). У помірно прогрітій

водоймі вміст кисню не був нижчим за 4,5–5,6 мг/дм³ (температура води – 18,5–23,7°C). В стаціонарних умовах вміст кисню у воді був на рівні 7,5–10,2 мг/дм³.

За результатами власних досліджень встановлено, що при зміні температурного режиму істотно змінюється швидкість проходження ембріональних стадій розвитку риб, зокрема коропа та рослиноїдних риб. При коливанні температури води протягом доби та під час проходження всього ембріогенезу на нерестовищах, не дивлячись на те, що загальна сума тепла була вищою, ніж у стабільних умовах, уповільнюється швидкість проходження ембріональних стадій розвитку досліджених видів риб. Затримка розвитку ембріонів коропа за цих умов досягала 30% від загально часу ембріонального розвитку.

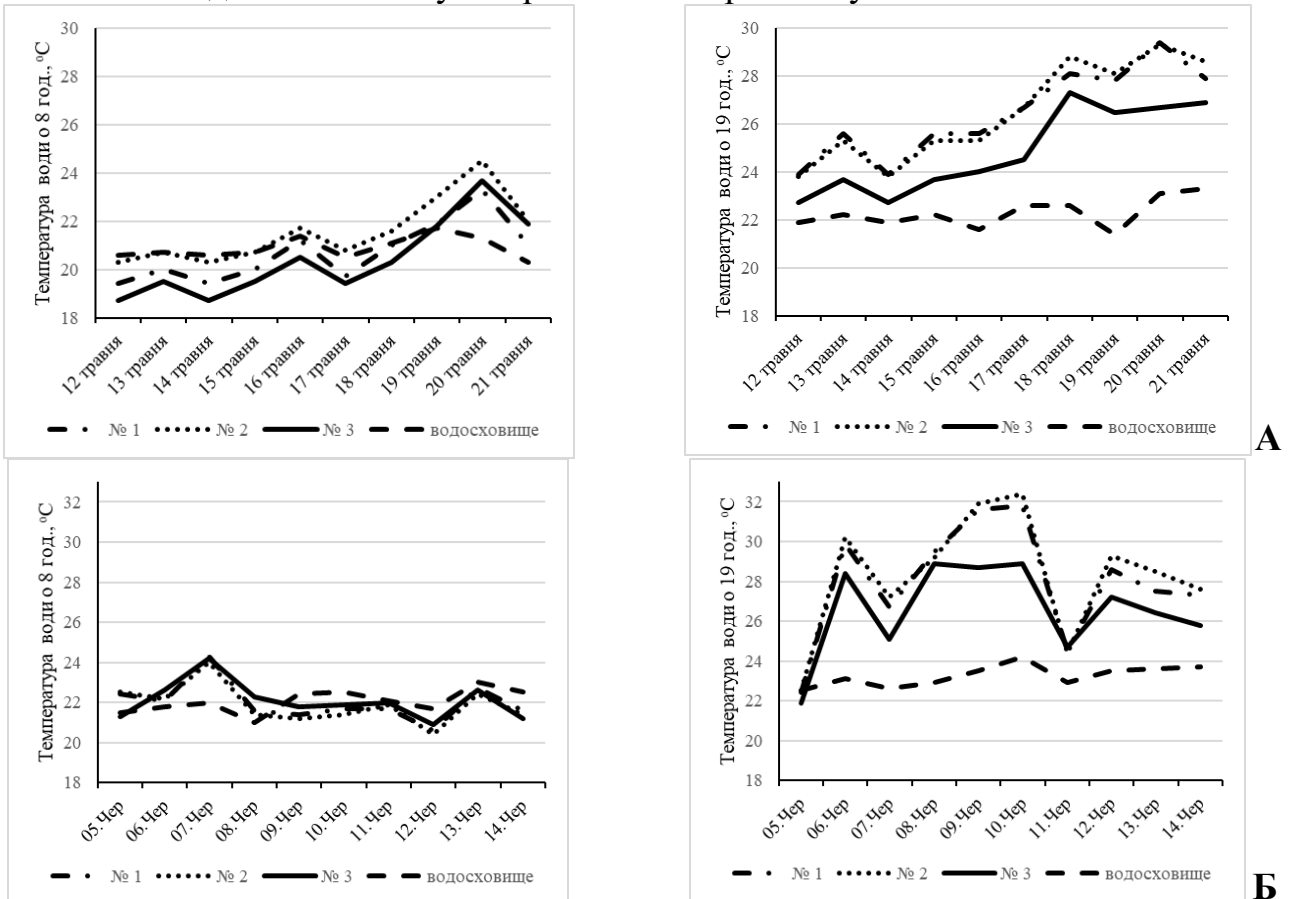


Рис. 1. Температура води під час проведення досліджень о 8 та 19 годині.

Примітка: А – короп, Б – рослиноїдні риби.

Навіть несуттєва середньодобова різниця температури у 0,5–0,8°C у дослідних водоймах призводить до істотного уповільнення ембріогенезу рослиноїдних риб на 20% від загального часу. При цьому в умовах стабільної температури в діапазоні 23–25°C ембріональний розвиток продовжувався 32–36 год. В найбільш прогрітій водоймі (температура води вище за 28°C) та при зниженні концентрації розчиненого кисню нижче за 5,0 мг/дм³ спостерігається підвищення кількості аномальних зародків. Так, при 30–32°C аномалії розвитку ембріонів білого товстолобика виявлено до 94%, при 28–30°C – до 75%, при 27–29°C – до 54%, в контрольних, стаціонарних умовах (23–25°C) – не більше 15%.

Для коропових та окуневих риб найбільш характерні такі основні види ембріопатій:

1. Викривлення хребта (до 68% від загальної кількості всіх аномалій);
2. Водянки внутрішніх органів та тканин, в першу чергу, головного відділу та перикарду (до 13%);
3. Недостатня кількість міомерів (до 8%);
4. Нестандартна форма жовткового мішка (до 7%);
5. Повна відсутність жовткового мішка (до 2%);
6. Недорозвиненість головного відділу зародків (до 2%).

Нами відмічена істотна різниця за довжиною та масою передличинок коропа за дії різної температури. Так, при збільшенні температури води на 2°C середня довжина та маса личинок знижувалася на 20%. Для цих личинок характерним є більш швидке проходження ембріональних стадій розвитку. Для рослиноїдних риб подібної закономірності не спостерігалось, але і сам ембріональний розвиток тривав 32–36 год, проти 84–100 год у коропа.

Також, помічено сталу закономірність зміни кількості мікроядер у клітинах ембріонів коропа під впливом підвищеної температури води (рис. 3). Якщо на стадії дрібноклітинної морули у зародків цей показник практично не змінюється, то в подальшому відмічені негативні наслідки перевищення оптимальної для розвитку ембріонів норми температури. Так, на стадії очних бокалів при 28 та 30°C спостерігається підвищення кількості мікроядер у ембріональних клітинах на 35,4–37,9% порівняно з меншими температурами.

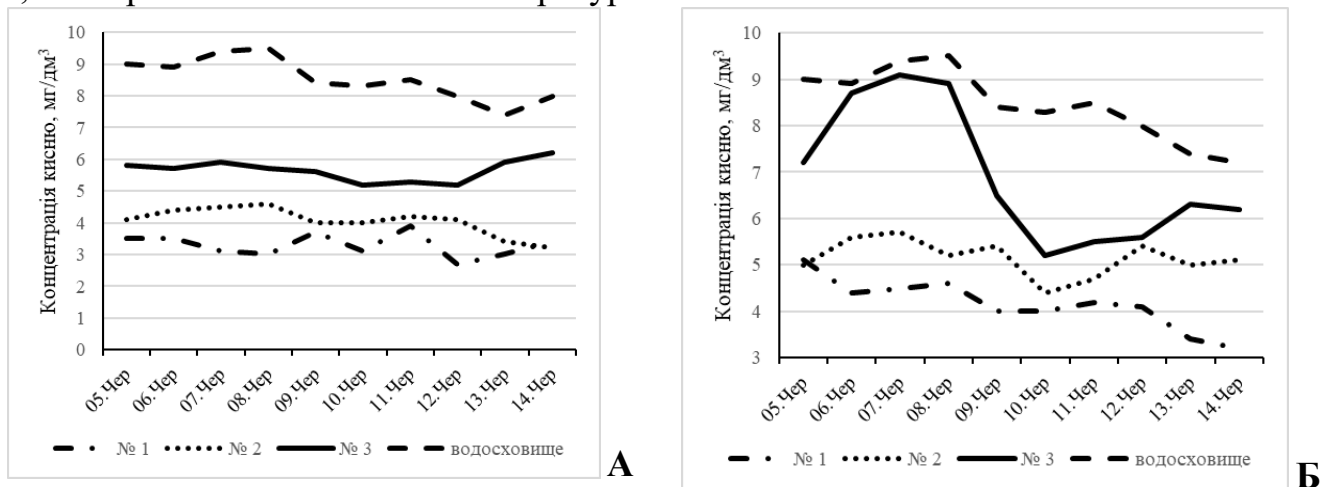


Рис. 2. Концентрація кисню у воді о 4 год. ранку під час проведення досліджень.

Примітка: А – короп, Б – рослиноїдні риби.

У рослиноїдних риб в ембріонах спостерігалась велика кількість мікроядер в клітинах, особливо вона зростала на пізніх стадіях розвитку. На ранніх стадіях розвитку зародків від дрібноклітинної морули до кінця гастрюляції переважали клітини з 2–4 мікроядрами (до 93%). На пізніх етапах їх розвитку від стадії очних бокалів до 3-х добових личинок в клітинах спостерігалось 4–6 мікроядер (до 84%) та 7–8 (до 6%). Таким чином, при підвищенні температури води понад 26–28°C спостерігаються цитогенетичні порушення мітотичного поділу клітин, які можуть призвести до аномального розвитку ембріонів білого товстолобика. Значний вплив в цих процесах чинить і зниження концентрації розчиненого кисню у воді, що спостерігається при зростанні температури.

Аналогічні закономірності змін кількості мікроядер у клітинах за дії підвищення температури води спостерігались в ембріональних та личинкових клітинах білого амура. Для цього виду риб характерне різке збільшення цього показника з переходом на наступну стадію ембріонального розвитку.

Під час проведення досліджень з іншими видами риб (окунь, йорж та плітка) не було значних коливань температури води та істотного зниження концентрації розчиненого кисню, але збереглась тенденція, що по мірі збільшення температури води кількість мікроядер в ембріональних клітинах зростає.

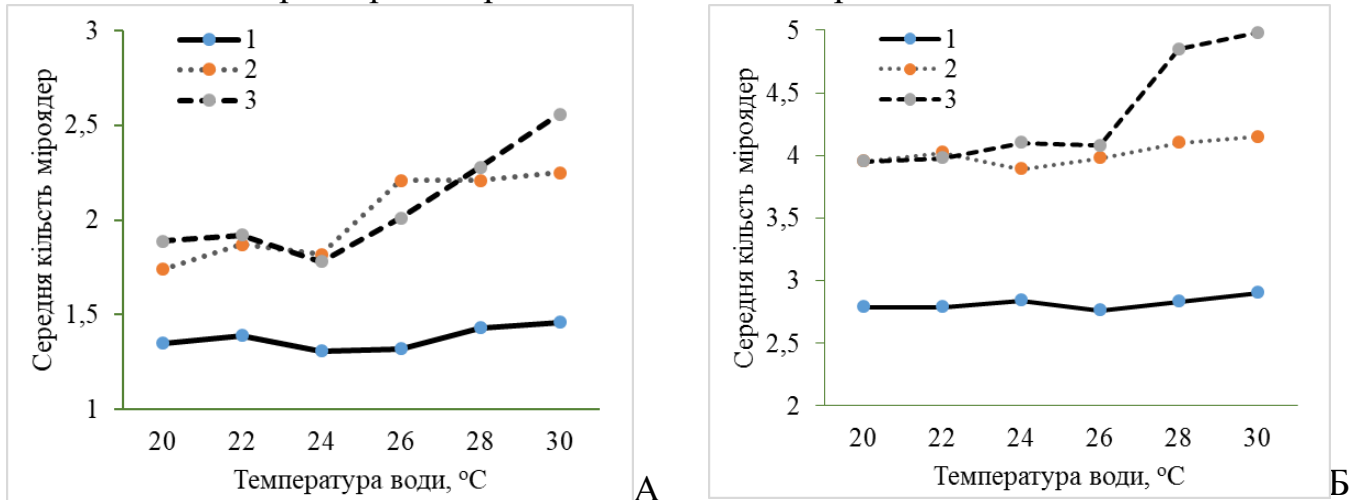


Рис. 3. Зміна кількості мікроядер в клітинах коропа (А) та білого товстолобика (Б) на різних стадіях розвитку залежно від температури води.

Примітка: 1 – дрібноклітинна морула; 2 – пігментація очей; 3 – 3-х добові личинки.

ВПЛИВ КОЛИВАНЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ НА ЗАГАЛЬНІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОНІВ, ПЕРЕДЛИЧИНОК ТА ПЛОДЮЧІСТЬ РИБ

За результатами власних досліджень встановлено, що ембріони коропа можуть адаптуватися до високої температури зовнішнього середовища (до 31°C), але тільки при достатньому вмісті розчинного кисню в воді (4,5–5,8 мг/дм³). Мінімальні рівні білка в тканинах личинок характерні для середньої частини діапазону температур води (26,5°C), як з підвищенням, так і зі зниженням температури оточуючого середовища його вміст поступово збільшується, досягаючи максимуму при крайніх показниках температури (22°C та 28°C). Але все ж для них оптимальним діапазоном температури для проходження постембріонального розвитку є 22–24°C. За цих умов відмічено мінімальну кількість аномально розвинених зародків. При 27–28°C та концентрації кисню у воді понад 5,0 мг/дм³ також відмічається висока життєстійкість зародків, але ця температура виявляється потужним тератогенним чинником для ембріонів коропа та призводить до аномального розвитку ембріонів.

Личинки коропа мають більшу адаптивну здатність до змін умов існування порівняно з ембріонами, які знаходяться в оболонці. Підтвердженням цьому може служити високий вміст глікогену в тканинах без різких його змін протягом чотирьох діб постембріонального розвитку в усьому дослідженому діапазоні температур. Також був встановлений стабільно високий рівень ліпідів, але найбільший їх вміст відмічений при 26–27°C.

Встановлено, що ембріональний розвиток білого амура задовільно проходить і при температурі води до 29°C при достатньому рівні насичення киснем води. Саме при цій температурі ми спостерігали найвищий вміст білків та глікогену. Також, заслуговує на увагу той факт, що під час ембріонального розвитку білого амура при 33°C за умов високого насичення води киснем від 6,5 до 7,4 мг/дм³ цей вид риб почував себе в межах норми. Але при зниженні концентрації розчиненого кисню переважав аномальний розвиток ембріонів. У білого амура вищі адаптивні можливості до температурного та кисневого режиму водойми порівняно з коропом та білим товстолобиком, що підтверджується його високою життєздатністю. Для личинок білого амура протягом перших трьох діб розвитку характерним є те, що максимальний рівень глікогену був при 22°C, а на четверту добу при цій температурі спостерігали вже його мінімум. Очевидно, для личинок при переході на змішане живлення оптимум температури збільшився до 25°C.

Зміни вмісту глікогену в ембріонах білого товстолобика протягом всього ембріонального розвитку вказують на те, що його зародки втрачають велику кількість енергії на пристосування до підвищення температури води та відповідно до зниження концентрації розчиненого кисню. За загальними біохімічними показниками оптимальною температурою для проходження нормального ембріонального розвитку білого товстолобика можна вважати 25–28°C при достатній концентрації розчиненого кисню. При погіршенні кисневих умов вона становить 23–25°C.

Оскільки ембріогенез окуня відбувався ранньою весною, коли температура на природних нерестовищах суттєво не коливається, не було помічено різких коливань рівня білків. Але при підвищенні температури навіть на 0,4–1,0°C в ембріонах та передличинках зменшується синтез нових білків, не зважаючи на оптимальну насиченість води киснем. За вмістом глікогену в них оптимальною температурою для ембріонального розвитку є 9–14°C, але з її підвищенням до 16–18°C личинки цього виду риб добре пристосовуються. Вміст ліпідів в зародках окуня не змінюється в межах температури від 8,7 до 11,2°C. Проте, вже після вилуплення при зростанні температури води передличинки втрачають більшу кількість запасних ліпідів, що пов'язане з прискоренням розвитку ембріонів.

За біохімічними показниками, зокрема за вмістом білків в зародках видно, що найбільш оптимальним діапазоном температури води для ембріонального розвитку йоржа є 14–16°C. Проте, вже з передличинкових стадій цей діапазон зростає до 20°C. Під час ембріогенезу зародки цього виду швидко реагували за вмістом ліпідів на зміну умов середовища, а його величини свідчили про сприятливість температури під час розвитку організму. Так, в заплідненій ікрі містилось 99,0 мг/г ліпідів при 9,2°C. Вже на стадії закінчення гастрюляції максимальний їх вміст 93,2 мг/г було зафіксовано при 13,6°C, а мінімальний – 60,6 мг/г при 14,5°C, що на 35% менше. Наступна стадія розвитку (очні бокали) відбувалася на фоні значного підвищення температури води у водоймах на 2,5–4,3°C, що призвело до суттєвого зниження рівня ліпідів у ембріональних тканинах. При істотному перевищенні кліматичної норми ембріони та личинки йоржа втрачали значну кількість ліпідів, які

використовувалися на енергозабезпечення адаптаційних процесів та на прискорення їх розвитку.

Для ембріонів плітки в температурному діапазоні 14–17°C не помічено істотних відмінностей у синтезі нових білків та утилізації запасних білків. З подальшим підвищенням температури оточуючого середовища до 18,5°C ми спостерігали різке збільшення вмісту білків у тканинах. Це може свідчити про прискорення розвитку ембріонів та синтезу необхідних білків. Вміст ліпідів в ембріонах плітки також залежав від температури води, найбільший їх рівень на різних стадіях ембріонального розвитку спостерігається при 15–17°C. За межами цього діапазону цей показник зменшувався. З передличинкових стадій розвитку личинки вже цілком нормально сприймають температуру від 19°C до 21°C без збільшення аномалій їх розвитку, але за умови достатнього насичення води киснем.

Також нами проведені дослідження розвитку ооцитів самок краснопірки в різних температурних та кисневих умовах. Встановлено, що стабільні температурні (20,2–25,2°C) та кисневі (6,5–8,8 мг/дм³) умови в літній період були більш сприятливим для формування та дозрівання ооцитів у краснопірки. Негативні прояви в їх рості та накопиченні в них запасних речовин спостерігаються на перших етапах розвитку ооцитів (червень місяць) при значних коливаннях температури води від 18,7 до 28,0°C та від 19,5 до 30,2°. Саме за цих умов в передранковій годині відбувається зниження концентрації розчиненого кисню до 4,8 мг/дм³ та 4,2 мг/дм³ відповідно. В липні місяці при завершенні III стадії розвитку ооцитів продовжується накопичення запасних речовин в них. Але на цьому етапі риби достатньо адаптувалися до значних температурних перепадів, а підвищена температура не заважала процесам накопичення білків, ліпідів та глікогену і в цілому трофічному росту ооцитів. За цих умов спостерігається позитивний вплив температури води на кормову базу водойми.

Таким чином, при тривалому існуванні риб за умов значних коливань температури води та вмісту розчиненого кисню, які виходять за межі оптимуму, краснопірка добре адаптується і здатна використовувати переваги, які надають їй екологічні чинники, підвищує свою плодючість, збільшує накопичення запасних білків, ліпідів та глікогену в ооцитах.

ЗМІНА АКТИВНОСТІ ОСНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА ПЛАСТИЧНОГО ОБМІНУ В ЕМБРІОНАХ ТА ПЕРЕДЛИЧИНКАХ РИБ ЗА ДІЇ РІЗНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ

Результати наших досліджень показали, що зі зростанням температури водного середовища вище за норму зменшувалась активність Na⁺, K⁺-АТФази, що зумовлено пригніченням окисно-відновних та активізацією анаеробних процесів за низького вмісту кисню у воді. Особливо відчутне зниження активності ферменту у ікрі коропа встановлено за температури води 30°C при добовому її коливанні 2–3°C (рис. 4).

Характерною особливістю цього виду риб є те, що на всіх стадіях розвитку активність ферменту найбільша при температурі 22°C. При зростанні температури

води вона значно падає й досягає мінімуму при 26°C. Далі з наступним збільшенням температури активність знову зростає, що відбувається через розвиток адаптивних реакцій до несприятливих чинників за рахунок активізації обмінних процесів між зовнішнім та внутрішнім для ембріонів середовищем.

За показником активності Na⁺,K⁺-АТФ-ази найбільш оптимальною температурою для розвитку ембріонів білого амура та білого товстолобика можна вважати таку, що не перевищує 25,0°C. Саме за такої температури спостерігався активний обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем для зародків, а активність АТФ-ази знаходилася на високому рівні порівняно з іншими температурними режимами (рис. 5). Важливо відзначити, що під час проведення досліджень при температурі 25,0°C у водоймах створилися задовільні кисневі умови (вище за 5,0 мг/дм³), чого не спостерігалось при подальшому її підвищенні. При температурі вище за 28,0°C найчастіше був помічений аномальний розвиток ембріонів.

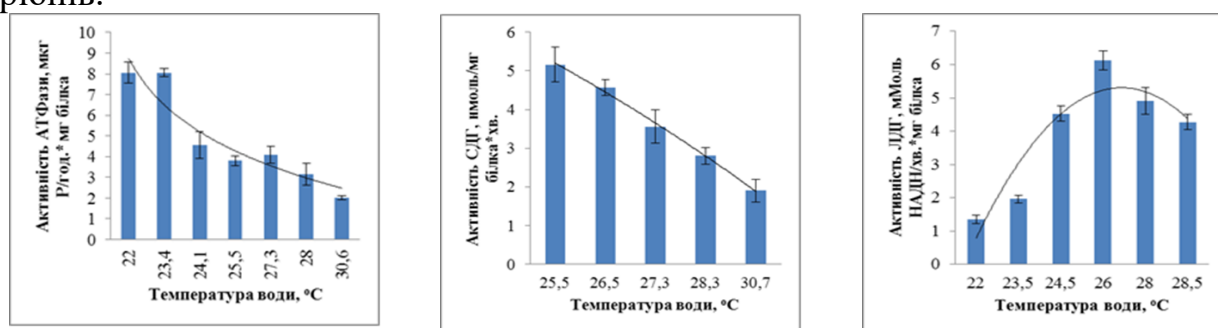


Рис. 4. Зміна активності Na⁺/K⁺-АТФ-ази (А), СДГ (Б) та ЛДГ в ембріонах коропа на стадії пігментації очей залежно від температури води.

Оскільки, ембріональний розвиток окуня відбувається при відносно низьких температурах, то протягом всіх досліджень ми не спостерігали погіршення кисневого режиму, його концентрація була в межах 5,0–11,6 мг/дм³. Але за показником активності Na⁺/K⁺-АТФази для зародків окуня найбільш сприятливими температурами для ембріонального розвитку є нижні її значення до 15°C. Після вилуплення у передличинок максимальна активність ферменту була при 16,3°C.

Плітка більш теплолюбивий вид риб порівняно з окунем, для неї характерні значно вищі температури води під час проходження ембріонального розвитку. Активність АТФ-ази істотно зростає з підвищенням температури води, що свідчить про добру пристосованість плітки до температурного чинника та вона може витримувати деяке перевищення кліматичної норми.

При зростанні температури води вище за кліматичну норму (22–25°C) змінюється співвідношення СДГ/ЛДГ в бік збільшення лактатдегідрогеназної і зменшення сукцинатдегідрогеназної активності. Це, в свою чергу, свідчить про перехід енергетичного обміну у зародків з окисно-відновних процесів на анаеробні. Відомо, що при температурі води нижче за оптимальну активність проходження метаболічних процесів значно сповільнюється, відбувається генерування енергії за рахунок гліколізу, в якому лактатдегідрогеназа приймає безпосередню участь.

Протягом всього ембріонального розвитку коропа під час підвищення температури за межі оптимальної рівень активності СДГ знижується. Нетипове підвищення температури води в період нересту риб в природних умовах на тлі

зниження вмісту кисню у воді істотно впливає на її активність у ембріональних тканинах. На третю та четверту добу розвитку личинок коропа активність СДГ істотно зростає при збільшенні температури води, чого не було помітно в перші дві доби, де була відмічена зворотна залежність. Це вказує на те, що передличинки коропа після перших двох діб життя змогли більш ефективно адаптуватися до високих температур – 27–29°C.

Отримані дані по активності СДГ в ембріонах білого товстолобика та білого амура вказують, що для нормального проходження його ембріонального розвитку найбільш сприятливою є температура 24–25°C. Проте активність СДГ протягом всього ембріогенезу білого амура залишається на високому рівні.



Рис. 5. Зміна активності Na⁺/K⁺-АТФ-ази (А), СДГ (Б) та ЛДГ в ембріонах білого амура на стадії очних бокалів залежно від температури води.

Отримані дані по активності СДГ у ембріонів окуня в умовах коливань температури води вказують на те, що для проходження нормального ембріонального та постембріонального розвитку окуня оптимальними є 9–11°C. Проте, навіть при підвищенні до 15–16°C ембріони та личинки добре адаптуються.

Рівень активності СДГ в зародках плітки під час проходження всіх ембріональних стадій розвитку зменшується по мірі зростання температури води з 15°C до 20°C.

Активність ЛДГ протягом всього ембріогенезу коропа також чітко реагує на зміну умов середовища та залежить від стадії розвитку зародків. Оптимальною температурою для нормального розвитку ембріонів коропа за цим показником можна вважати 22–24°C, при подальшому підвищенні ембріони коропа продовжують розвиватись, але з більшою кількістю аномалій та зі зменшенням життєздатності.

В умовах зниження в передранкові години рівня насичення води киснем до 3,5 мг/дм³ при 29°C ембріони рослиноїдних риб реагують збільшенням активності ЛДГ, тобто активується гліколіз.

На ранніх стадіях ембріонального розвитку окуня (кінець гастрюляції – очні бокали) спостерігається максимальна активність ЛДГ у зародках при 8–10°C, з підвищенням температури вона знижується. За цих умов для проходження ембріогенезу активно застосовується гліколіз. На наступних стадіях розвитку зародків та після вилуплення передличинок при підвищенні температури води у дослідних водоймах активність ЛДГ була найменшою при 15°C порівняно з 16–18°C. Це вказує на те, що для ембріонального та постембріонального розвитку окуня

діапазон температури 14–16°C є прийнятним. За цих умов ембріони та личинки добре ростуть та розвиваються.

В процесі ембріонального розвитку зародки та личинки плітки реагують збільшенням активності ЛДГ у своїх тканинах за дії підвищення температури води, а особливо зниження концентрації розчиненого кисню. Так, під час розвитку передличинок рівень розчиненого кисню у воді на нерестовищах знижувався до 3,2–3,7 мг/дм³. Низька його концентрація була відмічена лише в передранкові години, а після 8 год. ранку оптимальний рівень кисню поступово відновлювався. Проте навіть такий короткочасний дефіцит кисню у воді вплинув на перебіг метаболічних процесів, змістивши його в сторону анаеробного енергозабезпечення. Мінімальне значення активності ЛДГ було при 19°C та становило 28,18 мМоль НАДН/хв×мг білка, а максимальне при 21°C – 32,3 мМоль НАДН/хв×мг білка, що на 14,6% більше.

Таким чином, за результатами проведених досліджень можна стверджувати, що рівень активності ЛДГ та СДГ та їх співвідношення у ембріональних тканинах личинок є показовими індикаторами впливу екологічних умов середовища на ембріональний розвиток риб. Саме ці ферменти своєчасно та адекватно реагують на найменші зміни температурного та кисневого чинників, що дає можливість оцінити сприятливість умов існування.

За активністю ключових ферментів Na⁺/K⁺-АТФази, ЛДГ та СДГ також можна стверджувати, що для нормального проходження ембріонального розвитку йоржа оптимальним є діапазон температури в межах 14–18°C, а раннього постембріонального – 19–21°C.

Протягом всього ембріогенезу коропа в досліджуваному діапазоні температур активність протеаз у тканинах знаходиться на високому рівні. Це свідчить про те, що ембріони цього виду риб продовжують розвиватися в широкому діапазоні температур. Характерним є те, що кожна стадія має свій оптимум температури. На початкових стадіях розвитку це можуть бути більш високі значення температури – 25–26°C, для більш пізніх стадій розвитку та безпосередньо перед виупленням передличинок – 23–24°C.

Для білого амура на початкових стадіях розвитку характерна висока активність протеаз від 4,26 ум.од./мг білка×год. при 21°C до 10,23 ум.од./мг білка×год (29°C). Однією з причин аномального розвитку ембріонів за високих температур води може бути надмірна активність цих ферментів, зокрема на стадії кінець гастрюляції. На наступних етапах розвитку активність протеаз знижується на 23–60,8% та знаходиться в доволі вузьких межах від 3,2 до 3,98 ум.од./мг білка×год. при всіх досліджених температурах води. Це свідчить про те, що ембріони білого амура на цьому етапі розвитку починають пристосовуватися до надмірної температури.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

За результатами власних досліджень встановлено, що при зміні температурного режиму істотно змінюється швидкість проходження ембріональних стадій риб, зокрема коропа та рослиноїдних риб. При коливанні температури води

протягом доби та під час проходження всього ембріогенезу на нерестовищах, не дивлячись на те, що загальна сума тепла була вищою, ніж у стабільних умовах, уповільнюється проходження ембріональних стадій розвитку досліджених видів риб на 20–30% від загального часу. Підвищення температурного режиму водойми істотно впливає на виживання ембріонів риб. Так, при досягненні температури води в денні години 26,5–28,5°C життєздатність ембріонів коропа знижується на 30–43% порівняно з 22°C. Білий амур та білий товстолобик менш чутливі до дії підвищеної температури, але при переважанні 30°C також спостерігається зниження виживаності ембріонів на 23–45% порівняно з стабільною температурою на рівні 21–22°C. Зростання температури вище оптимальної та зниження концентрації кисню у воді викликає аномалії розвитку риб. Ці чинники мають значний тератогенний ефект.

Досліджені екологічні чинники водного середовища суттєво впливають на генетичний апарат ембріонів на пізніх стадіях розвитку та личинок риб, що проявляється у появі більшої кількості мікроядер у ембріональних клітинах.

У ембріонів більшості з досліджених видів риб на пізніх стадіях розвитку знижується вміст білку у зародкових тканинах по мірі підвищення та при коливанні температури води, при зниженні концентрації розчиненого кисню. Саме за цих умов і спостерігається аномальний розвиток предличинок. Крім того за цих умов витрачається більша кількість глікогену для енергетичного забезпечення адаптивних процесів. Ліпіди на ембріональних етапах розвитку мало застосовуються в ході розвитку зародків, вони більше використовуються під час постембріонального розвитку. Але при перевищенні 26°C ембріони рослиноїдних риб втрачають значну кількість ліпідів. Йорж засвоює більше ліпідів при ембріональному розвитку з підвищенням температури води, чого не спостерігалось по відношенню глікогену.

За біохімічними показниками нормально розвинуті передличинки риб порівняно з ембріонами менш чутливі до підвищення температури та її коливанням протягом доби, а також на зниження концентрації кисню. Отже, у них більш розвинуті механізми адаптації до дії екологічних чинників.

Процес дозрівання ооцитів краснопірки істотно залежить від екологічних умов. На перших етапах їх розвитку після нересту риб спостерігаються негативні прояви в рості ооцитів та накопиченні в них запасних речовин при перевищенні температури води понад норму та при зниженні вмісту розчиненого кисню у воді. Проте, при тривалому існуванні самок краснопірки за цих умов, вони добре адаптуються і здатні підвищувати свою плодючість, збільшують накопичення запасних білків, ліпідів та глікогену в ооцитах.

Нами встановлено, що всі досліджені види реагують на зростання температури та зниження вмісту розчиненого кисню підвищенням активності ЛДГ. Тим самим ембріони активно застосовують гліколіз для енергозабезпечення свого розвитку. Але, як видно на прикладі коропа, при досягнення критичної температури для розвитку ембріонів активність цього ферменту поступово знижується, одночасно знижується і активність СДГ, яка задіяна в аеробному диханні. Порушення енергозабезпечення ембріонального розвитку може призвести до порушень нормального розвитку зародків. Саме при підвищеній температурі

знижується життєздатність ембріонів та збільшується кількість аномально розвинутих ембріонів.

Деякі особливості відмічені для рослиноїдних риб – активність СДГ поступово підвищується до досягнення оптимальних для ембріонального розвитку величин температури. При перевищенні оптимуму активність ферменту починає знижуватися. Для холодноводного виду – окуня встановлено, що одночасно з підвищенням температури зростає як активність СДГ, так і ЛДГ. Це призводить до прискорення його ембріонального розвитку.



Рис. 6. Схема біохімічних, цитогенетичних та іхтіологічних проявів негативного впливу підвищеної температури та зниженої концентрації розчиненого кисню.

При незначному коливанні температури води в межах оптимуму та задовільних кисневих умовах активність ЛДГ в ембріонах всіх досліджених видів була нижчою порівняно з істотним коливальним та підвищеним температурним режимом, а активність СДГ переважно більшою. Таким чином ці умови більш сприятливі для проходження нормального ембріонального розвитку риб.

Як показали наші дослідження, за дії підвищеної температури води та її істотних коливань протягом доби відбувається зниження активності Na,K-АТФ-ази. Причому це характерно для всіх досліджених видів риб. Зниження активності цього ферменту призводить до зменшення обміну між зовнішнім для зародків середовищем та їх внутрішнім середовищем.

Активність протеаз протягом всього ембріонального розвитку риб знаходиться на високому рівні. Проте за дії несприятливих чинників спостерігається її значне підвищення на фоні аномального розвитку риб.

На рис. 6 показані основні прояви впливу коливань екологічних чинників на ембріональний розвиток та біохімічні та цитогенетичні показники риб.

Нами встановлені основні адаптивні реакції ембріонів та передличинок корокових та окуневих риб: під час ембріонального розвитку спостерігається пригнічення аеробного дихання та переважання гліколізу; активізація використання глікогену та білків для підтримки енергетичного обміну; зниження інтенсивності обміну між зовнішнім та внутрішнім середовищем зародків. Під час раннього постембріонального розвитку спостерігається активне використання ліпідів для енергозабезпечення; посилене використання білків для енергозабезпечення; підвищення ролі СДГ та зниження ЛДГ в енергетичному обміні; зростання обміну між зовнішнім та внутрішнім середовищем личинок.

ВИСНОВКИ

В природних умовах досліджені морфологічна, цитологічна, фізіологічна та біохімічна реакція ембріонів та личинок корокових і окуневих риб в різних екологічних умовах. Встановлено основні закономірності фізіолого-біохімічного стану ембріонів за дії коливання та підвищення температури води і зниження концентрації розчиненого кисню. За результатами досліджень можна сформулювати наступні висновки:

1. Коливання температури води на 2–5°C, тривале перебування її на критично високому рівні (28°C для коропа, 29–32°C для білого товстолобика та білого амура) та зниження концентрації розчиненого кисню (3,5–4,2 мг/дм³) викликають продовження тривалості ембріонального розвитку ікри.
2. Зростання температури води на 2°C призводить до зменшення маси та довжини личинок коропа, які зазнавали дії цього чинника протягом всього ембріонального розвитку, на 27,0 та 25,0% відповідно.
3. Значні коливання температури води протягом ембріонального розвитку риб, перевищення оптимального рівня, зниження концентрації кисню є потужними тератогенними чинниками. За цих умов формуються аномальні передличинки різних видів риб, яких може досягати 82%. Аномалії проявляються у викривленні хребта, зменшенні чисельності міомерів, водянці внутрішніх органів та зміні форми жовткового міхура.
4. При зростанні температури води вище 26°C, її коливанні протягом доби та зниженні концентрації кисню в ембріонах на пізніх стадіях розвитку та передличинках збільшується середня кількість мікроядер у клітинах на 4,3–35,4% для коропа, на 3,8–14,5% для білого амура, на 5,1–25,1% для білого товстолобика.

5. Перевищення оптимуму температури води та зниження концентрації кисню викликає істотне зменшення активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази у ембріонів корошових (в 2,5 рази) та окуневих риб (на 47%), що свідчить про пригнічення рівня обмінних процесів та транспорту між зовнішнім для ембріонів та їх внутрішнім середовищем.
6. При підвищенні температури та зниженні концентрації кисню у воді в зародках всіх досліджених видів риб зростає активність ЛДГ (в 1,7-1,9 рази), використовується більша кількість запасних енергоємних речовин, що свідчить про активне застосування гліколізу для підтримки енергетичного балансу.
7. В несприятливих для ембріонального розвитку риб температурних та кисневих умовах знижується активність СДГ у тканинах (в 2,6-5,5 разів), що свідчить про пригнічення аеробних процесів енергетичного забезпечення та може негативно позначитися на фізіологічному стані зародків та суттєво знизити життєздатність личинок.
8. Активність протеаз в ембріональних тканинах максимальна при оптимальній температурі води, що свідчить про високу активність білкового обміну, яка дозволяє зародкам успішно проходити всі етапи розвитку та метаморфозу без утворення різноманітних аномалій.
9. За біохімічними показниками зародків та передличинок риб встановлено межі оптимального температурного режиму для проходження ембріонального розвитку риб, а саме: для коропа – 20–24°C, для білого товстолобика – 25–28°C, білого амура – 21–29°C, йоржа – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плітки – 15–17°C при концентрації кисню вище за 5,0 мг/дм³.
10. Рівень оптимальної для ембріонального розвитку риб температури зменшується на 2–4°C зі зниженням концентрації розчиненого кисню.
11. За біохімічними показниками встановлено, що при переході ембріонів на передличинкові стадії розвитку та для личинок корошових та окуневих видів риб оптимум температури води зростає на 2–3°C.
12. Підвищення температури води на нерестовищах та її істотні коливання протягом доби, які призводять до зменшення концентрації розчиненого кисню, негативно впливають на ембріональний розвиток та репродуктивний потенціал корошових та окуневих видів риб.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті в фахових виданнях:

1. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Репродуктивні властивості краснопірки за дії екологічних чинників // Наук. записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. Тернопіль: ТНПУ. 2015. Вип. 3/4 (64). С. 96–99. *(збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).*
2. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Вплив коливань температурного режиму водойми на ембріональний розвиток білого товстолобика // Рибогосподарська наука України. 2015. №1. С. 96–107. *(збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).*
3. Водяницький О.М., Прімачов М.Т., Гриневич Н.Є. Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на виживаність та розвиток корошових риб // Науковий вісник НУБіП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2016. Вип. 234. С. 70–78. *(збір і*

обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).

4. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Худіяш Ю.М. Вплив коливань температурного та кисневого режимів водойми на вміст білків та глікогену в ембріонах корошових риб // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2016. № 3–4 (67). С. 48–55. (збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).

5. Vodianitskiy O.M., Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G. Embryonic and Early Postembryonic Development of Carp and Activity of Enzymes of the Energy and Plastic Metabolism under Impact of Water Temperature Fluctuations // Hydrob. J. 2017. Vol. 53, 1. P. 78–86. (збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).

6. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Причепа М.В. Зміна активності Na⁺/K⁺-АТФази в ембріонах корошових риб за дії різного температурного та кисневого режиму водойм // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2017. Вип. 75. С. 14–22. (збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).

Статті в інших виданнях:

7. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Гриневич Н.Є. Зміна активності ферментів енергетичного обміну ембріонів коропа за дії абіотичних чинників водного середовища // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. БНАУ. 2016. № 1. С. 9–16. (збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).

8. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Гриневич Н.Є., Куновський Ю.В., Присяжнюк Н.М., Михальський О.Р. Вплив коливань температурного режиму водойми на вміст білків в ембріонах та передличинках окуня звичайного (*Perca fluviatilis*, L.) // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. БНАУ. 2016. № 2. С. 56–61. (збір і обробка біологічного матеріалу, аналіз і узагальнення результатів досліджень, участь у написанні статті).

Матеріали та тези конференцій у інших виданнях:

9. Водяницький О.М. Вплив температурного режиму водойми на ембріогенез коропа // Актуальні проблеми сучасної гідроекології. Науково-практ. конф. для молодих вчених. Присвячена 95-річчю НАН України. Київ, 2013. С. 14–15;

10. Белошапка Т.В., Водяницький А.М., Матвиенко Н.Н., Желтоножская Т.Б., Пермякова Н.М. Использование витаминов А и В6, инкапсулированных в полимерные носители, при выращивании мальков чешуйчатого карпа // Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України, Мат. І Всеукр. науково-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, 8–9 жовтня 2014 року, м. Дніпропетровськ, Україна. Дніпропетровськ, 2014. С. 111–113. (участь у проведенні досліджень, узагальненні даних та написанні матеріалів);

11. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Ембріональний розвиток коропа та активність ферментів енергетичного та пластичного обміну за дії коливань температурного режиму водойми // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології. Мат. VII Міжнар. іхтіол. науково-практ. конф. Присвячується 140-річчю Херсонського державного аграрного університету. 10–13 вересня 2014 року м. Мелітополь-Бердянськ, Україна. Мелітополь-Бердянськ, 2014. С. 38–42. (участь у проведенні досліджень, узагальненні даних та написанні матеріалів);

12. Водяницький О.М. Активність ферментів енергетичного та пластичного обміну ембріонів білого товстолобика за дії коливань температурного та кисневого режиму водойм // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем. Зб. мат. науково-практ. конф., присвяченої 75-річчю заснування Інституту гідробіології НАН У. 2-3 квітня, 2015 р. Київ, 2015. С.16–18;

13. Водяницький О.М. Активність ферменту ЛДГ в ембріонах білого товстолобика залежно від дії різких коливань температурного та кисневого режимів водойми // Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті: тези доповідей міжнар. науково-практ. конф. молодих учених, аспірантів і докторантів «Екологічні проблеми сучасного світу та шляхи їх вирішення», 14–15 травня 2015 р. Біла Церква, 2015. С. 13;

14. Водяницький О.М. Вплив абіотичних чинників водного середовища на ранній ембріогенез риб // Екологічні проблеми України та шляхи їх вирішення: тези доповідей держ. науково-практ. конф., 19 листопада 2015 р. Біла Церква, 2015. С. 26;

15. Водяницький О.М. Активність ферменту СДГ ембріонів білого товстолобика та білого амура за дії коливань температурного та кисневого режиму водойми // Міжнар. науково-практ. конф. молодих вчених, аспірантів і докторантів. «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті», 19–20 травня 2016 р. Біла Церква 2016. С. 42–43;

16. Водяницький О.М., Причеп М.В. Вплив абіотичних чинників на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази під час ембріонального розвитку коропа та білого амура // Науково-практ. конф. молодих вчених «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» 6–7 жовтня 2016 р. Київ. С. 13–15. (*участь у проведенні натурних досліджень, узагальненні даних та написанні матеріалів*).

17. Водяницький О.М., Куновський Ю.В. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на кількість білків та глікогену в ембріонах коропа // Держ. науково-практ. конф. «Аграрна наука – виробництву» 17 листопад, Біла Церква. 2016. С. 18–19. (*участь у проведенні натурних досліджень, узагальненні даних та написанні матеріалів*).

18. Белошапка Т.В., Матвієнко Н.М., Водяницький О.М. Вплив вітамінів А та В 6 на рибницько-біологічні показники цьоголіток коропа кої (*Cyprinus carpio koi*) при впливу стрес-факторів // «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології». Мат. IX міжнар. іхтіол. науково-практ. конф. Одеський держ. екологічний ун–тет, 14–16 вересня 2016 р. Одеса, 2016. С. 17–19. (*участь у проведенні натурних досліджень, узагальненні даних та написанні матеріалів*).

19. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Активність ферментів енергетичного обміну в ембріонах та передличинках плітки за дії різного температурного та кисневого режиму водойми // Мат. II Міжнар. науково-практич. конф. «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем». 12–15 вересня 2017 року, м. Дніпро, Україна. Дніпро, 2017. С. 50–52. (*участь у проведенні натурних досліджень, узагальненні даних та написанні матеріалів*).

ПОДЯКА

Автор висловлює щирю вдячність науковому керівнику д.б.н., с.н.с. О.С. Потрохову; к.б.н., с.н.с. О.Г. Зінковському; к.б.н. Ю.М. Худіашу та к.б.н. М.В. Причепі за надання цінних порад, консультацій та допомогу в обробці зібраного матеріалу.

Анотація

Водяницький О.М. Морфологічні та цитогенетичні особливості ембріогенезу риб при різних екологічних умовах водного середовища. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.10 «Іхтіологія». – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2018.

На підставі оцінки морфологічної, цитологічної, фізіологічної та біохімічної реакції ембріонів та личинок коропових і окуневих риб обґрунтовані безпечні рівні змін екологічних чинників у природних водоймах в умовах підвищення температури води на нерестовищах. Показано, що абіотичні чинники спричиняють потужний тератогенний ефект на ембріони та личинок риб. За різких коливань температури води та вмісту розчиненого кисню у різних видів риб спостерігається поява аномальних передличинок, кількість яких може досягати 82%. Встановлено основні закономірності змін величин біохімічних показників ембріонів та личинок окуневих та коропових видів риб. Визначено активність ферментів енергетичного та пластичного обміну у них при надмірній температурі води та зниженій концентрації розчиненого кисню.

Науково обґрунтовано оптимальні рівні температури води для нормального ембріонального розвитку риб, а саме: для коропа – 20–24°C, білого товстолобика – 25–28°C, білого амура – 21–29°C, йоржа – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плітки – 15–17°C. Ці температури є оптимальними лише при достатній концентрації розчиненого кисню у воді (не нижче 5 мг/дм³). При зниженій концентрації кисню у воді оптимум температури зменшується.

Отримані результати дозволяють обґрунтувати безпечні для ембріонального розвитку риб зміни екологічних чинників водного середовища. Узагальнення результатів досліджень дають можливість оцінити ефективність нересту риб на нерестовищах та дати прогноз про рибопродуктивність природних водойм на наступні роки. Визначені оптимальні рівні температури води та її коливання, вмісту розчиненого кисню можна застосовувати при відтворенні аборигенних видів риб в штучних умовах.

Ключові слова: *абіотичні чинники, температура води, концентрація розчиненого кисню, ембріони, личинки, ембріопатії, білок, загальні ліпіди, глікоген, активність ЛДГ, СДГ, Na⁺, K⁺-АТФ-ази, протеази.*

Аннотация

Водяницький А.М. Морфофизиологические и цитогенетические особенности эмбриогенеза рыб при различных экологических условиях водной среды. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.10 «Ихтиология». - Институт гидробиологии НАН Украины, Киев, 2018.

На основании оценки морфологической, цитологической, физиологической и биохимической реакции эмбрионов и личинок карповых и окуневых рыб обоснованные безопасные уровни изменений экологических факторов в естественных водоемах в условиях повышения температуры воды на нерестилищах. Показано, что колебание абиотических факторов оказывают мощный тератогенный эффект на эмбрионы и личинки рыб. При резких колебаниях температуры воды и содержания растворенного кислорода наблюдается появление аномальных предличинок у разных видов рыб, количество которых может достигать 82%. Установлены основные закономерности изменений величин биохимических показателей эмбрионов и личинок окуневых и карповых видов рыб. Определены активность ферментов энергетического и пластического обмена в них при чрезмерной температуре воды и пониженной концентрации растворенного кислорода.

Научно обоснованы оптимальные уровни температуры воды для нормального прохождения эмбрионального развития рыб, а именно: для карпа – 20–24°C, белого толстолобика – 25–28°C, белого амура – 21–29°C, ерша – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плотвы – 15–17°C. Эти температуры являются оптимальными лишь при достаточной концентрации растворенного кислорода в воде (не ниже 5 мг/дм³). При пониженной концентрации кислорода в воде оптимум температуры уменьшается.

Полученные результаты позволяют обосновать безопасные для эмбрионального развития рыб колебания экологических факторов водной среды. На основании проведенных исследований можно оценить эффективность нереста рыб на нерестилищах и дать прогноз рыбной продуктивности природных водоемов на последующие годы. Установленные оптимальные уровни температуры воды и ее колебания, содержания растворенного кислорода можно применять при воспроизведении аборигенных видов рыб в искусственных условиях.

Ключевые слова: *абиотические факторы, температура воды, концентрация растворенного кислорода, эмбрионы, личинки, эмбриопатии, белок, общие липиды, гликоген, активность ЛДГ, СДГ, Na⁺, K⁺-АТФазы, протеазы.*

SUMMARY

Vodianitskyi O. Morpho-physiological and cytogenetic features of embryogenesis of fish under various environmental conditions of the aquatic environment. – The manuscript.

Thesis for a candidate degree in biological sciences (doctor of philosophy) in specialty 03.00.10 "Ichthyology". – Institute of Hydrobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2018.

Based on the assessment of the morphological, cytological, physiological and biochemical responses of embryos and larvae of carp and perch fish, safe levels of changes in environmental factors in natural reservoirs are grounded in conditions of rising water temperature in spawning grounds. Under the influence of atypical and sharp fluctuations of the abiotic factors of the aquatic environment, the rate of the passage of the embryonic development of aboriginal fish species is changing. The increase in water temperature leads to a decrease in the mass and length of fish larvae, which were subject to the effect of the whole embryonic development. This indicates the excessive utilization of spare substances during embryonic development due to the rise in water temperature.

It is shown that abiotic factors have a powerful teratogenic effect on embryos and larvae of fish. In the case of sharp fluctuations in water temperature and dissolved oxygen content, there is anomalous predilections occurring in different species of fish, which can reach 82%. At the same time for embryos at the same time characterized by the presence of several anomalies, including distortion of the spine and watery internal organs. Also, with the predominance of water temperatures above 26–28°C, and correspondingly, when the concentration of oxygen in water decreases in the later stages of the development of embryos and in fish larvae, an increase in the average number of micronuclei in the cells.

The basic regularities of changes of general-biochemical indices of embryos and larvae of perch and carp species of fish are established. The activity of energy and plastic enzymes in them at the excessive water temperature and the reduced concentration of dissolved oxygen is determined. With an increase in the water temperature above optimum and a decrease in the concentration of dissolved oxygen, the activity of Na^+ , K^+ -ATPase in fish embryos significantly decreases, indicating a decrease in the level of metabolic processes between the external for the embryos and their internal environment. When the environmental conditions deteriorate, in particular the increase in water temperature and the decrease in the concentration of dissolved oxygen, the activity of LDH in tissues increases significantly in fish embryos. Consequently, embryos of fish actively use glycolysis to maintain their energy balance.

Scientifically grounded optimal water temperature levels for the normal passage of the embryonic development of fish, namely for carp – 20–24°C, white carp – 25–28°C, grass carp – 21–29°C, ruff – 14–16°C, perch – 9–12°C, roach – 15–17°C. These optimal temperatures for fish embryogenesis are inherent only at a sufficient concentration of dissolved oxygen in water (not less than 5 mg/dm³). At low concentrations of oxygen in water, the optimum temperature decreases.

The obtained results substantiate the levels of changes in environmental factors of the aquatic environment safe for the passage of embryonic development of fish. Based on the conducted research it is possible to estimate the efficiency of spawning of fish in spawning grounds and to provide a forecast of fish productivity of natural reservoirs for subsequent years. The optimal water temperature and fluctuation levels, and the content of dissolved oxygen can be used for recreation of aboriginal fish species under artificial conditions.

The use of such indicators as the number of micronuclei in cells, the degree of abnormal development of embryos and the activity of enzymes in the energy complex in fish embryos to assess the quality of the water environment and the negative impact of environmental factors is recommended.

The obtained data can also be used in the educational process in teaching disciplines of ichthyologic, physiological, biochemical and ecological content at the faculties of natural science.

Key words: *abiotic factors, water temperature, dissolved oxygen concentration, embryos, larvae, embryopathy, protein, common lipids, glycogen, LDH activity, SDH, Na^+ , K^+ -ATPase, protease.*