

ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ

УДК: 591.3:597.55.2: [574.2:577.151]

ВПЛИВ КОЛИВАНЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ НА ЕМБРІОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК БІЛОГО ТОВСТОЛОБИКА

О. М. Водяніцький, fishfarmeralex@ukr.net, Інститут гідробіології НАН України,
м. Київ

О. С. Потрохов, alport@bigmir.net, Інститут гідробіології НАН України, м. Київ

О. Г. Зінковський, hydrobiol@igb.ibc.com.ua, Інститут гідробіології НАН України,
м. Київ

Мета. Визначити дію коливань температурного режиму на розвиток ембріонів білого товстолобика та активність ферментативних реакцій в ікрі риб.

Методика. Дослідження проводилися на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України протягом червня-липня. Біологічним матеріалом були ікра, ембріони та личинки білого товстолобика. Вміст розчиненого кисню у воді вимірювали о четвертій годині ранку за методом Вінклера. Активність лужної фосфатази та ЛДГ встановлювали з використанням набору реактивів «Лужна фосфатаза» і «ЛДГ» (Філісит-Діагностика, Україна). Активність сукцинатдегідрогенази визначали за методом Вексея. Активність Na, K-активуючої Mg-залежної АТФ-ази встановлювали за приростом неорганічного фосфору в середовищі інкубації за методом М.Н. Кіндратової та ін. Активність протеаз – імуноферментним методом за Тюриною та ін. Отримані дані опрацьовані статистично за програмою Statistica 5.5, *Eraprobit an alysis program used for calculating LC/EC values (Version 1.5)*.

Результати. Результати досліджень показали, що при підвищенні температури води та зниженні вмісту розчиненого кисню у воді відбувається затримка проходження ембріональних стадій розвитку, зростає кількість аномальних ембріонів, знижується ефективність відтворення риб. Температурний чинник мав суттєвий вплив на активність ключових ферментів, а саме перехід енергетичного обміну з аеробного на анаеробний.

Наукова новизна. Встановлено негативний вплив абіотичних чинників водного середовища та різких коливань температури води й газового режиму водойм на хід ембріогенезу білого товстолобика, що особливо важливо при кліматичних змінах останнього часу.

Практична значимість. Отримані результати дозволяють стверджувати, що за показниками активності лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, АТФ-ази та протеаз можна встановлювати рівні оптимальних та несприятливих чинників навколишнього середовища під час проходження ембріональних та личинкових стадій розвитку риб.

Ключові слова: ембріональний розвиток, білий товстолобик, коливання температурного режиму водойми, активність ферментів.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Дослідження впливу змін температурного режиму водойми на життєдіяльність риб проводяться у зв'язку з його змінами, викликаними роботою енергетичних об'єктів [1, 2]. Останнім часом у багатьох річках спостерігається підвищення температури води на 4–5°C, що суттєво змінює умови мешкання риб [3]. При цьому, знижується вміст розчиненого кисню у воді, збільшується утворення вуглекислого газу та сірководню, підвищується вміст у воді заліза,



сполук азоту та ін. Крім того, змінюється видовий склад фіто- та зоопланктону, відбувається зміщення біологічних сезонів у часі [4].

Здатність риб жити в певному температурному інтервалі є еволюційно сформованою адаптацією до температурного режиму навколишнього середовища тієї або іншої групи риб. Проте, поряд з адаптацією до певних термічних умов окремої водойми, особливе значення має їх здатність протидіяти різким короткочасним або тривалим змінам температури [5, 6]. У зв'язку з цим, рядом вчених проводяться експериментальні дослідження стійкості риб до високих та низьких (граничних) температур, а також адаптаційних можливостей риб до підвищення або зниження температур [7–10].

Для нормального проходження обмінних процесів важливі, як рівень змін температур, так і швидкість, з якою вони відбуваються. Різне зниження температури може призвести до такого сповільнення метаболічних процесів, яке вже не може забезпечити нормальний хід процесів життєдіяльності [15]. Протилежне значне підвищення температури може викликати таке зростання інтенсивності обмінних процесів, які важко або неможливо забезпечити киснем. Тому в пойкилотермних тварин є механізми контролю інтенсивності обмінних процесів, і, в першу чергу, за рахунок ферментативної регуляції.

Виходячи з сучасних досліджень, фізіологічний стан і можливість існування окремих видів риб під дією зміни клімату, а саме: різких перепадів температурного режиму водойм, нетипово високої температури води в літній період, відносно теплої і тривалої осені, холодної зими, зміні річних циклів, можна оцінити як за активністю низки ферментів та ферментативних систем, так і за гормональним статусом риб.

Відомо, що температурний чинник регулює метаболізм, формування, темп індивідуального розвитку, визначає тривалість етапів в ембріогенезі риб. Процеси метаболізму в риб відбуваються в специфічних температурних межах та специфічному оптимумі для кожного виду. Кращі результати інкубації ікри виходять тоді, коли в першій половині ембріогенезу діють низькі температури, а в другій половині – підвищені, але не виходячи за межі оптимальних [18].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Фізіологічні реакції організму мають вирішальне значення для процесу адаптації риб до швидко виникаючих змін температурного режиму та різких змін інших екологічних чинників у природних водоймах. Проте ефективність цих реакцій помітно знижується, коли виникає необхідність пристосування до більш тривалих температурних змін, які відбуваються протягом значної кількості діб чи тижнів (наприклад, за температурних змін водойм або за тривалого перевищення температурних норм для даного регіону) або за багатомісячних сезонних змін [11, 12].

У таких випадках істотного значення набуває біохімічний рівень реакцій організму та механізми компенсаторної біохімічної адаптації, які забезпечують нормальну життєдіяльність риб у широкому діапазоні температур і їх виживання за екстремальних температур.

Відомо, що температурні зміни чинять істотний вплив на швидкість метаболічних реакцій і загальну інтенсивність обміну. Підвищення температури в толерантному діапазоні призводить до посилення інтенсивності обміну, а її



зниження – до його пригнічення [13]. Між тим, основні обмінні процеси в організмі повинні підтримуватися на певному рівні, який може змінюватися лише у доволі вузьких межах, інакше настає порушення гомеостазу, яке викликає загибель організму [14].

Найбільш показовими є дослідження, які проводяться на ранніх етапах розвитку риб, коли у якості тест-об'єктів обрані особини з меншим ступенем пристосування до коливань чинників водного середовища. Різка їх зміна справляє значний негативний вплив на рибу під час усіх етапів розвитку. Ікра та личинки, через те, що їх системи захисту знаходяться на стадії розвитку і відсутність можливості покинути ділянки з несприятливими умовами, найбільш вразливі до їх дії. Нехарактерне підвищення температури призводить до істотних змін газового режиму та викликає порушення поділу клітин, процесів диференціації органів та тканин і, в цілому, негативно впливає на нормальний хід ембріогенезу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилися на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Біологічним матеріалом досліджень були ікра, ембріони та личинки білого товстолобика. Для дослідження були відібрані три водойми (стави), які через особливості свого розташування та різного затінення відрізнялися за температурними умовами і кисневим режимом. Це особливо важливо, оскільки через кліматичні зміни саме ці показники будуть найбільш мінливі. Температуру води вимірювали протягом доби о 4, 12 та 20 год., у процесі проходження ембріональних стадій розвитку білого товстолобика. Вміст розчиненого кисню у воді вимірювали о четвертій годині ранку за методом Вінклера [15].

Всі дослідні водойми, а також контроль (апарати типу Вейса) наповнювалися водою з р. Рось. Ця вода характеризується наступними гідрохімічними показниками: O_2 – 8,4–9,7 мг/дм³; рН – 8,3; твердість – 6,1 мг-екв./дм³; Ca^{2+} – 3,3 мг-екв./дм³; $66,13$ мг Ca^{2+} /дм³; Mg^{2+} – 2,8 мг-екв./дм³; $34,02$ мг Mg^{2+} /дм³; Cl^- – 0,85 мг-екв./дм³; $30,13$ мг Cl^- /дм³; NH_4^+ – 0,277 мгN/дм³; NO_2^- – 0,006 мгN/дм³; NO_3^- – 0,080 мгN/дм³; PO_4^{3-} – 0,062 мгP/дм³; ПО – 8,0 мгO/дм³; БО – 18,48 мгO/дм³.

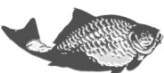
Штучно запліднена ікра білого товстолобика розміщувалася в кристалізаторах у сітчастих контейнерах, встановлених у водоймі, та підлягала дії всього комплексу екологічних умов водного середовища.

Активність лужної фосфатази та ЛДГ встановлювали з використанням набору реактивів «Лужна фосфатаза» і «ЛДГ» (Філісит-Діагностика, Україна). Активність сукцинатдегідрогенази визначали за методом Вексея [16]. Активність Na, K-активуючої, Mg-залежної АТФ-ази встановлювали за приростом вмісту неорганічного фосфору в середовищі інкубації за методом М. Н. Кіндратової та ін. Активність протеаз – імуноферментним методом за Тюриною та ін. [17].

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

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За період проведення досліджень температурний режим водойм був таким: контроль – середня температура – 21,8°C (19,7–23,5°C), вміст розчиненого кисню у воді о 4-ій год. ранку – 7,6 мг/дм³ (7,2–8,4 мг/дм³); дослідна водойма



№ 1 – 25,3°C (19,2–31,5), 5,3 мг/дм³ (3,2–7,2); водойма № 2 – 25,0 (19,2–30,9), 5,8 (3,7–7,4); водойма № 3 – 25,3°C (19,2–31,5), 5,3 мг/дм³ (3,2–7,2) 23,4°C (18,7–27,8°C), 6,6 мг/дм³ (4,8–8,8). У ранкові та вечірні години різниця температур води між водоймами збільшувалася.

Рослиноідні риби характеризуються прискореним ембріональним розвитком. Весь ембріогенез всередині оболонки триває протягом 32–36 год., але передличинки менш розвинені, в них відсутні формені елементи крові і слабо розвинена кровоносна система.

У стабільних екологічних умовах (контроль) ембріональний розвиток відбувався швидше, ніж за ширшого діапазону коливань екологічних чинників у природних водоймах. При цьому сума тепла за період інкубації ікри була вищою у дослідних водоймах. У більш прогрітих водоймах ембріональний розвиток білого товстолобика був прискорений порівняно з іншими водоймами.

Ікра білого товстолобика негативно реагує на передранкове зниження вмісту розчинного кисню у воді – менше ніж 4,0 мгО/дм³. При коливанні та підвищенні температури води спостерігається зниження життєздатності ембріонів білого товстолобика на 8,5–12,5% за першу добу та 9,4–21,1% за другу добу порівняно з контролем. При цьому не відмічена істотна різниця за довжиною та масою передличинок контролю та з досліджуваних водойм. Проте, в найбільш прогрітій водоймі спостерігається підвищення кількості аномальних зародків білого товстолобика (рис. 1).



Рис. 1. Аномальні зародки білого товстолобика з найбільш прогрітої дослідної водойми



Як показали проведені дослідження, протягом перших 10–12 год. ембріонального розвитку риб до стадії закінчення гастрюляції особливий вплив на зміни активності ЛДГ має температура зовнішнього середовища (рис. 2).

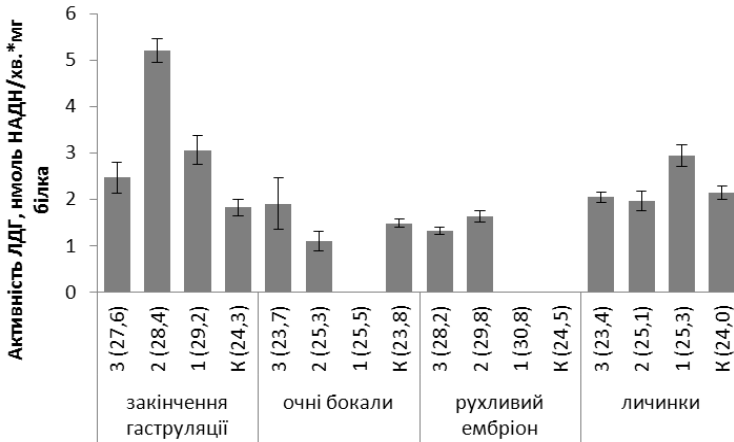


Рис. 2. Зміна активності ЛДГ за різних екологічних умов протягом ембріонального розвитку білого товстолобика, $M \pm m$, $n=6$

*Примітки: 1, 2, 3 – дослідні водойми, К – контроль; в дужках середня температура води на час відбору проб, °C

Ці етапи проходили в денні години за наявності достатнього вмісту розчиненого кисню у воді. Так, в стабільних екологічних умовах (контроль та менш прогріта водойма) активність ферменту є завжди нижчою, ніж за підвищеної температури водного середовища.

Наступні 6–10 год., які супроводжувалися нічним зниженням температури води у всіх досліджених водоймах та проходженням етапів раннього органогенезу, характеризувалися загальним зниженням активності ЛДГ в ікрі риб. Причому відхилення зазначеного показника від попереднього періоду розвитку в контрольних умовах не було настільки значними.

На останніх етапах ембріонального розвитку до вилуплення ембріонів з оболонки, які проходили завжди в денний час, активність ЛДГ залишалася стабільною, причому вона знаходилася в прямій залежності від температури зовнішнього середовища.

Лише на личинкових стадіях розвитку в ранкові години спостерігалася активація цього ферменту. При цьому вища температура води (25,3°C) та зниження вмісту розчиненого кисню у воді (до 4,2 мг/дм³) викликали підвищення активності ЛДГ на 37,4–49,2%, порівняно з більш сприятливими умовами інших експериментальних водойм.

Таким чином, з підвищенням температури води на ембріональних стадіях розвитку білого товстолобика активізуються процеси гліколізу. На личинкових стадіях ці процеси відмічені також за зниження вмісту розчиненого кисню у воді.

Активність сукцинатдегідрогенази свідчить про рівень енергозабезпечення метаболічних процесів залежно від стадії розвитку ікри та екологічних умов у зовнішньому середовищі. У контрольних умовах за стабільного температурного та кисневого режимів рівень активності сукцинатдегідрогенази протягом всього ембріонального розвитку білого товстолобика залишається постійним. За дії коливань температури, які супроводжуються зменшенням концентрації



розчиненого кисню, за цим показником у ембріонів з різних водойм існують суттєві розбіжності (рис. 3). Переважно, з підвищенням температури води зростає і активність цього ферменту.

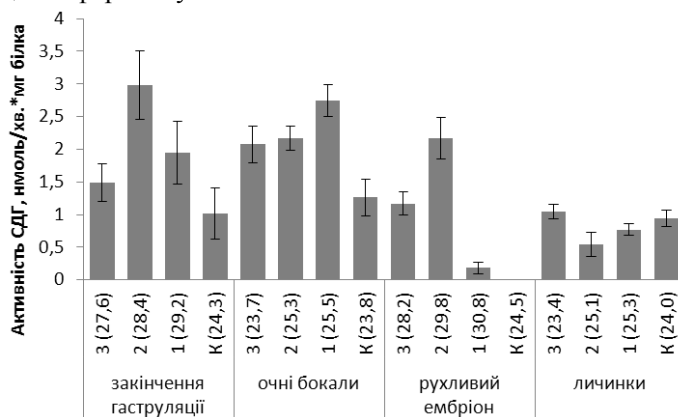


Рис. 3. Зміна активності сукцинатдегідрогенази за різних екологічних умов протягом ембріонального розвитку білого товстолобика, $M \pm m$, $n=6$

*Примітки: 1, 2, 3 – дослідні водойми, К – контроль; в дужках середня температура води на час відбору проб, °C

На стадії очних бокалів в ембріонах білого товстолобика відмічена пряма залежність між температурою та активністю сукцинатдегідрогенази: на цей час кисневий режим був сприятливим у всіх водоймах. На стадії рухливого ембріона при значному (вищому за норму) перегріві води в денні години відбувається значне зниження активності сукцинатдегідрогенази – риби переходять на інші шляхи енергозабезпечення свого ембріонального розвитку.

Для личинкових стадій розвитку білого товстолобика характерна зворотна залежність між температурою навколишнього середовища та активністю сукцинатдегідрогенази. При цьому в стабільних температурних та кисневих умовах (контроль) спостерігалися високі значення активності цього ферменту. Вірогідно, через прискорений ріст та розвиток личинок у сприятливих умовах витрачається значно більша кількість енергії, в забезпеченні якою і бере участь сукцинатдегідрогеназа. Подібне явище відмічено і в менш прогрітій водоймі, де активність ферменту переважала її рівень за перевищення температурної норми для цього виду.

АТФ-аза бере активну участь в мінеральному обміні між внутрішнім для організму і навколишнім середовищем та забезпечує енергією цей процес. На ембріональних стадіях розвитку білого товстолобика активність цього ферменту значно нижча, ніж на личинкових. Це пов'язано з більш активним транспортом речовин з зовнішнього середовища в організм личинок – оболонки ікринки перешкоджають цьому процесу.

Для раннього ембріонального розвитку риб всередині оболонки активність АТФ-ази досить адекватно відображає стан зовнішнього середовища, сприятливість умов для ембріонів. При погіршенні екологічних умов підвищується активність АТФ-ази, тобто відбувається посилений обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем ікринки. На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що стабільні температурні та кисневі умови більш сприятливі для ембріонів білого товстолобика (рис. 4), але і при коливанні цих умов відбувається нормальний розвиток зародків. Лише за перевищення



**ВПЛИВ КОЛИВАНЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ
НА ЕМБРІОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК БІЛОГО ТОВСТОЛОБИКА**

температурою води значення 26^oC та зниженні вмісту розчиненого кисню у воді до 5,0 мг О/дм³, меншого посилення енерговитрат призводить до розвитку аномальних ембріонів та зниження їх життєздатності.

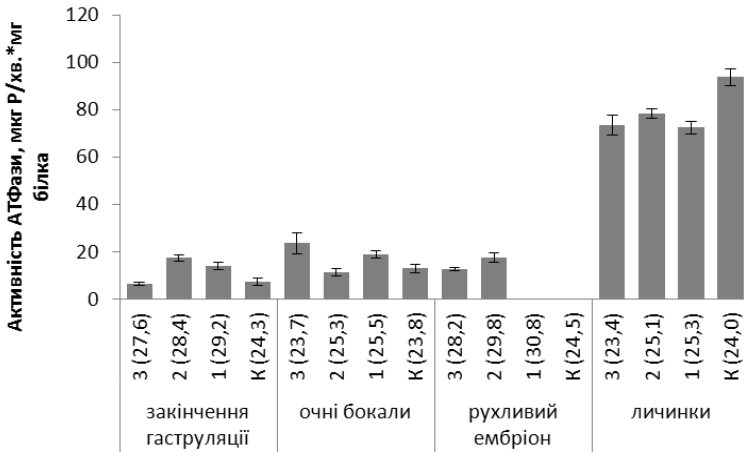


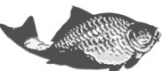
Рис. 4. Зміна активності АТФ-ази за різних екологічних умов протягом ембріонального розвитку білого товстолобика, M ± m, n=6

*Примітки: 1, 2, 3 – дослідні водойми, К – контроль; в дужках середня температура води на час відбору проб, °C

На личинкових стадіях розвитку обмін речовин за показником активності АТФ-ази завжди вищий у стабільних умовах. Вірогідно, основну роль в цих процесах відіграє вміст розчиненого кисню у воді. В умовах коливання екологічних чинників, активність ферменту нижча, що в першу чергу, пов'язано з часом відбору проб (зранку о 8 год.). Для більш досконального вивчення впливу чинників середовища на швидкість проходження метаболічних процесів у риб на личинкових стадіях необхідно розширити обсяг досліджень та визначити, які процеси відбуваються на передличинкових, личинкових та малькових стадіях розвитку риб.

Також були проведені дослідження щодо визначення активності протеаз на ембріональних стадіях розвитку за дії екологічних чинників. Це особливо важливо, оскільки саме на цих етапах відбуваються суттєві перетворення у риб, створюються нові тканини та органи. Для білого товстолобика це найбільш характерно, оскільки весь ембріогенез триває протягом 32–36 годин. Як показали наші дослідження, на ранніх етапах розвитку до закінчення гастрюляції за стабільних умов та в умовах коливання температури та вмісту розчиненого кисню у водоймі № 3, активність протеаз нижча, ніж при перевищенні норми температури води. Ці стадії розвитку відбувалися протягом світлового дня за постійного прогріву води. Встановлено, що чим вища температура води, тим вища активність протеаз і прискорений розвиток ембріонів (рис. 5).

Наступні етапи ембріогенезу проходили у нічний час, коли у водоймах відбувалося зниження температури водного середовища та вмісту розчиненого кисню у воді. В цих умовах відбувалося прискорення розвитку і збільшення активності протеаз в контрольних умовах порівняно з попередніми стадіями розвитку. Для дослідних водойм відмічена зворотна залежність між температурою води та активністю протеаз, та пряма залежність між вмістом розчиненого кисню у воді та активністю цих ферментів. Так, за вмісту кисню у воді на рівні 7,6 мг/дм³ активність протеаз ембріонів на стадії очних бокалів



складала 3,02 у.о./мг білка×год.; за 5,8 мг/дм³ – 1,95; за 4,9 мг/дм³ – 1,53 у.о./мг білка×год. ($r = 0,98$). До стадії рухливого ембріона зародки розвивалися переважно в денні години, і в даному випадку перевищення температурної норми викликало збільшення активності протеаз. Проте, незважаючи на більшу сумарну температуру води протягом ембріонального розвитку, темпи проходження ембріональних стадій за цих умов завжди були нижчими у порівнянні з контрольними. Вилуплення ембріонів швидше відбувалось у контрольних місткостях та стабільних умовах. Отже, за цим показником можна встановлювати рівні оптимальних та несприятливих чинників навколишнього середовища під час проходження ембріонального та личинкового розвитку риб.

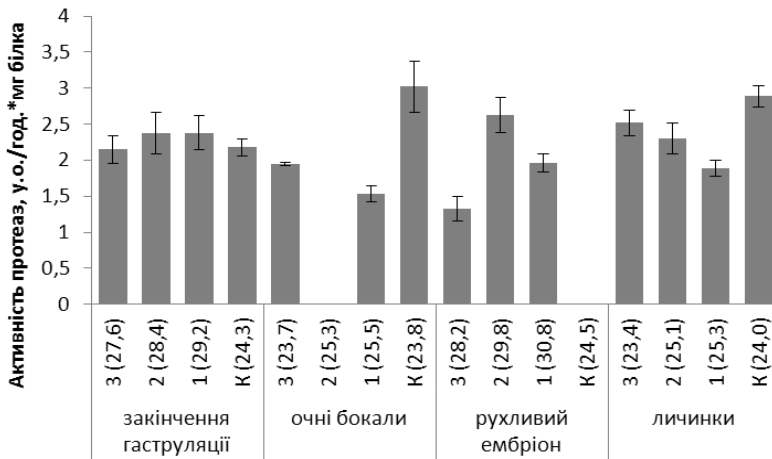


Рис. 5. Зміна активності протеаз протягом ембріонального розвитку білого товстолобика за різних екологічних умов, $M \pm m$, $n=6$

*Примітки: 1, 2, 3 – дослідні водойми, К – контроль; в дужках середня температура води на час відбору проб, °С

У результаті проведених досліджень встановлено, що за показниками активності ключових ферментів в ембріонах риб можна оцінити негативну дію аномальних температурних умов та низького вмісту розчиненого кисню у воді.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Ембріони білого товстолобика активно застосовують гліколіз для підтримки енергетичного балансу, а за активністю ЛДГ у ембріональних тканинах можна судити про погіршення кисневих умов у водоймі.

За несприятливих умов для ембріонального розвитку білого товстолобика необхідна значно більша кількість енергії, яку забезпечує сукцинатдегідрогеназа. В кращих умовах існування (стабільні контрольні та менш прогріті водойми) активність ферменту була нижчою, ніж за перевищеної температурної норми для цього виду.

Під час раннього ембріонального розвитку білого товстолобика всередині оболонки активність АТФ-ази досить адекватно відображує стан зовнішнього середовища, його сприятливість для ембріонів. За погіршення екологічних умов підвищується активність АТФ-ази, тобто відбувається посилений обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем ікринки. Стабільні температурні та кисневі умови більш сприятливі для ембріонів; під час їх коливання також відбувається нормальний розвиток зародків, але їх життєздатність дещо знижена.

На ранніх етапах розвитку до закінчення гастрюляції в умовах стабільності та



коливання в межах норми температури та вмісту розчиненого кисню у воді, активність протеаз нижча, ніж за перевищення норми температури води. За досягнення температури води значень, вище нормативних, істотно збільшується активність протеаз, що може викликати появу аномальних зародків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Романенко В. Д. Основы гидроэкологии / Романенко В. Д. — К. : Генеза, 2004. — 664 с.
2. Шатуновский М. И. О физиолого-биохимических индикаторов остояния рыб в водоемах-охладителях энергетических объектов / М. И. Шатуновский // Методы биоиндикации окружающей среды в районах АЭС. — М., 1988. — С. 27—100.
3. Janauer G. A. Aquatic Vegetation in River Floodplains: Climate Change Effects, River Restoration and Ecohydrology Aspects / G. A. Janauer // Climate Change. Inferences from Paleoclimate and Regional Aspects. — New York : Springer, 2012. — P. 149—156.
4. Лукьяненко В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии / Лукьяненко В. И. — М. : Агропромиздат, 1987. — 240 с.
5. Hochachka P. W. Biochemical adaptations / P. W. Hochachka, G. N. Somero. — Princeton University Press, USA, 1984. — 355 p.
6. Khillare Y. K. Effect of cold stress of the glycogen and ascorbic acid content of *Barbus stigma* (Ham.) / Y. K. Khillare, S. B. Wagh // Geobios (India). — 1989. — Vol. 16, № 1. — С. 47—48.
7. Константинов А. С. Некоторые особенности роста рыб при переменных температурах / А. С. Константинов, В. В. Зданович // Вопр. ихтиол. — 1986. — Т. 26, № 3. — С. 448—456.
8. Alabaster J. S. Water quality criteria for fresh water fish / J. S. Alabaster, R. Lloyd // Butter-Worth. — London, 1980. — P. 297—365.
9. Lemly A. D. Winter stress syndrome: an important consideration for hazard assessment of aquatic pollutants / A. D. Lemly // Ecotoxicol. Environ. Saf. — 1996. — Vol. 34 (3). — P. 223—227;
10. Storey K. B. Facultative metabolic rate depression: molecular regulation and biochemical adaptation in erobiosis, hibernation, and estivation / K. B. Storey, J. M. Storey // Q. Rev. Biol. — 1990. — Vol. 65. — P. 145—174.
11. Tatrai I. Influence of temperature free nitrogen metabolism of juvenile bream (*Abramis brama*) / I. Tatrai, T. Penczak // Comp. Biochem. and Physiol. — 1985. — Vol. 82, № 1. — P. 125—129.
12. Tripathi G. Sex-specific metabolic changes in the annual reproductive cycle of a fresh water catfish / G. Tripathi, P. Verma // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. — 2004. — Vol. 137(1). — P. 101—106.
13. Hochachka P. W. Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution / P. W. Hochachka, G. N. Somero. — Oxford : Oxford University Press, 2002. — 356 p.
14. Лав Р. М. Химическая биология рыб / Лав Р. М. — М. : Пищевая пром-сть, 1976. — 187 с.
15. Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна : методическое руководство / [Корниенко Г. Г., Бойко Н. Е., Бугаев Л. А. и др.]. — Ростов н/Д : Эверест, 2005. — 105 с.
16. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / Асатиани В. С.



- М. : Наука, 1965. — 544 с.
17. Пат. 2373538 Российская Федерация, МПК G01N33/53, G01N33/573. Способ определения IgG-протеиназной активности / [Тюрин Ю. А., Куликов С. Н., Фассахов Р. С. и др.] ; заявитель и патентообладатель Гос. образов. учреждение доп. проф. образования «Казанская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Федерал. гос. учреждение науки «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора. — № 2008113407/13; заявл. 28.03.2008; опубл. 20.11.2009, Бюл. № 32. — 5 с.
 18. Лебедева О. А. Влияние абиотических факторов среды на ранний онтогенез костистых рыб (*Teleostei*) / О. А. Лебедева // Проблемы раннего онтогенеза рыб : III Всесоюз. совещание, 25-26 мая 1983 г. : тез. докл. — Калининград, 1983. — С. 57—58.

REFERENCES

1. Romanenko, V. D. (2004). *Osnovygidrojekologii*. Kyiv: Geneza.
2. Shatunovskij, M. I. (1988). *O fiziologo-biohimicheskikh indikatorov sostojanija ryb v vodoemah-ohladiatel'jahj energeticheskikh objektov*. Metody bioindikacii okružhajushhej sredy v rajonah AES. Moskva.
3. Janauer, G. A. (2012). *Aquatic Vegetation in River Floodplains: Climate Change Effects, River Restoration and Ecohydrology Aspects*. Climate Change. In ferences from Paleo climate and Regional Aspects. New York: Springer.
4. Luk'janenko, V. I. (1987). *Jekologicheskie aspekty ihtiotoksikologii*. Moskva: Agropromizdat.
5. Hochachka, P. W., & Somero, G. N. (1984). *Biochemical adaptations*. Princeton University Press, USA.
6. Khillare, Y. K., & Wagh, S. B. (1989). Effect of cold stress of the glycigen and ascorbic acid on tent of Barbusstigma (Ham.). *Geobios (India)*, 16 (1), 47-48.
7. Konstantinov, A. S., & Zdanovich, V. V. (1986). Nekotorye osobennosti rosta ryb pri peremennyh temperaturah. *Vopr. Ihtiol*, 26 (3), 448-456.
8. Alabaster, J. S., & Lloyd, R. (1980). Water quality criteria for fresh water fish. *Butter-Worth*. London, 297-365.
9. Lemly, A. D. (1996). Winter stress syndrome: an important consideration for hazard assessment of aquatic pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 34(3), 223-227.
10. Storey, K. B., & Storey, J. M. (1990). Facultative metabolic rate depression: molecular regulation and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation, and estivation. *Q. Rev. Biol.*, 65, 145-174.
11. Tatrai, I., & Penczak, T. (1985). Influence of temperature of reeding on nitrogen metabolism of juvenile bream (*Abramis brama*). *Comp. Biochem. and Physiol.*, 82(1), 125-129.
12. Tripathi, G., & Verma, P. (2004). Sex-specific metabolic changes in the annual reproductive cycle of a fresh water catfish. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 137(1), 101-106.
13. Hochachka, P. W., & Somero, G. N. (2002). *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. Oxford: Oxford University Press.
14. Lav, R. M. (1976). *Himicheskaja biologija ryb*. Moskva: Pishhevaja prom-st'.
15. Kornienko, G. G., Bojko, N. E., & Bugaevi, L. A. et al. (2005). *Fiziologo-biohimicheskie geneticheskie issledovanija ihtiofauni Azovo-chernomorsko gobassejna. Metodicheskoe rukovodstvo*. Rostov-na-Donu: Jeverest.
16. Asatiani, V. S. (1965). *Novye metody biohimicheskij fotometrii*. Moskva: Nauka.



17. Tjurin, Ju. A., Kulikov, S. N., Fassahov, R. S., Dolbin, D. A., Bajazitova, L. T. (2009). *Sposob opredelenija IgG-proteinaznoj aktivnosti*. Pat. 2373538 (Publ. 20.11.2009, bull. 32). Rossijskaja Federacija.
18. Lebedeva, O. A. (1983). Vlijanie abioticheskih faktorov sredy narannij ontogenez kostistyh ryb (Teleostei). *Problemy rannego ontogeneza ryb: III Vsesojuznoe soveshhanie 25-26 maja 1983 g.* Kaliningrad. 57-58.

ВЛИЯНИЕ КОЛЕБАНИЙ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА ВОДОЕМА НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ БЕЛОГО ТОЛСТОЛОБИКА

А. М. Водяницкий, fishfarmeralex@ukr.net, Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

А. С. Потрохов, alport@bigmir.net, Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

О. Г. Зиньковський, hydrobiol@igb.ibc.com.ua, Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

Цель. Определить влияние измененного температурного режима на скорость развития эмбрионов белого толстолобика, а также активность ферментативных реакций в икре рыб.

Методика. Исследования проводились на Белоцерковской экспериментальной станции Института гидробиологии НАН Украины с июня по июль. Биологическим материалом исследований служили икра, эмбрионы и личинки белого толстолобика. Содержание растворенного кислорода в воде определяли по методу Винклера в четыре часа утра. Активность щелочной фосфатазы и ЛДГ определяли с использованием набора реактивов «Щелочная фосфатаза» и «ЛДГ» (Филисит-Диагностика, Украина). Активность сукцинатдегидрогеназы измеряли по Вексею. Активность Na, K-активизируемой, Mg-зависимой АТФ-азы определяли по простому неорганического фосфора в среде инкубации по методу М. Н. Кондратовой и др. Активность протеаз – иммуноферментным методом по Тюриной и др. Полученные результаты обработаны статистически с помощью программы Statistica 5.5, Eraprobit analysis program used for calculating LC/EC values (Version 1.5).

Результаты. Результаты исследований показали, что при повышении температуры воды и снижении содержания растворенного в воде кислорода происходит задержка прохождения эмбриональных стадий развития, растет количество аномальных эмбрионов, снижается эффективность воспроизводства рыб. Температурный фактор оказывает существенное влияние на активность ключевых ферментов, а именно на переход энергетического обмена с аэробного на анаэробный. Таким образом, при повышении температурного режима на нерестилищах и при достижении предельных значений окажется невозможным эффективное размножение рыб, особенно аэрофильных.

Научная новизна. Установлено отрицательное влияние абиотических факторов водной среды и резких колебаний температуры воды и газового режима водоема на эмбриогенез белого толстолобика, что особенно важно при климатических изменениях последнего времени.

Практическая значимость. Полученные результаты позволяют утверждать, что по показателям активности лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, АТФ-азы и протеаз можно устанавливать уровни оптимальных и неблагоприятных факторов окружающей среды при прохождении эмбриональных и личиночных стадий развития рыб.

Ключевые слова: эмбриональное развитие, белый толстолобик, колебания температурного режима водоема, активность ферментов.



THE EFFECTS OF WATER TEMPERATURE REGIME FLUCTUATIONS ON THE EMBRYONIC DEVELOPMENT OF SILVER CARP

A. Vodyanitskyi, fishfarmeralex@ukr.net, Institute of hydrobiology of Ukrainian National Academy of Sciences, Kiev

A. Potrokhov, alport@bigmir.net, Institute of hydrobiology of Ukrainian National Academy of Sciences, Kiev

O. Zinkovskiy, hydrobiol@igb.abc.com.ua, Institute of hydrobiology of Ukrainian National Academy of Sciences, Kiev

Purpose. To determine the effect of temperature regime fluctuations on the development of silver carp embryos, as well as the activity of enzymatic reactions in fish eggs.

Methodology. The studies were conducted at the experimental station of the Institute of Hydrobiology of Bila Tserkov, Ukrainian National Academy of Sciences, from June to July. The biological materials were silver carp eggs, embryos and larvae. The dissolved oxygen content was determined using the Winkler method at four o'clock in the morning. Alkalinity phosphatase and LDG activity were determined using a set of reagents «Alkalinity phosphatase» and «LDG» (Phyllis diagnosis, Ukraine). SDH activity was determined by Vexy. The activity of Na, K-Mg-dependent-activated ATPase was determined as growth of inorganic phosphorus in the incubation medium by Kindratova M.N. et al. Protease activity was determined using immune enzymatic method of Tyurina et al. The obtained results were processed statistically in Statistica 5.5, Epaprobis analysis was used for calculating LC/EC values (Version 1.5).

Findings The results showed that a delay of embryonic stages of development occur, the number of abnormal embryos increases, and the reproduction efficiency of fish reduces with an increase in water temperature and decrease in the dissolved oxygen content in water. The temperature factor had a significant effect on the activity of key enzymes, in particular the energetic metabolism changed from aerobic to anaerobic.

Originality. It was found a negative effect of abiotic factors of water medium and drastic fluctuations in water temperature and gas regime of water bodies on the course of embryogenesis of silver carp that is especially important in the conditions of climate change.

Practical value. The obtained results showed that the level of optimum and unfavorable environmental factors during the change of embryonic stages in embryonic and larval fish can be established based on the activity of lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, ATPase and protease.

Keywords: embryonic development, silver carp, fluctuations of temperature regime in water bodies, enzymatic activity.

