

СЕЗОННІ ЗМІНИ ЗАГАЛЬНИХ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КОРОПІВ ПІД ВПЛИВОМ СПЛУК АЛОХТОННОГО АЗОТУ

О.С. Потрохов, О.Г. Зіньковський,
Н.О. Могилевич

Інститут гідробіології НАН України

Досліджено вплив алохтонного азоту на вміст загального білка, ліпідів та глікогену в органах коропа. Відзначено, що баланс між синтезом і утилізацією макроергічних сполук залежить від температури води, сили дії токсичного навантаження та ефективності функціонування адаптаційних і компенсаторних механізмів в організмі.

Азотовмісні сполуки проявляють широкий спектр токсичної дії на організм риб [1; 10; 14], характер і ступінь впливу якого може бути визначений низкою фізіологічних і біохімічних показників. Чинником, що модулює здатність риб адаптуватися до токсичної дії сполук алохтонного азоту, є сезонні зміни їх фізіологічного статусу [3]. Крім того, значна частина сполук азоту фіксується, утилізується і підлягає детоксикації гідробіонтами в екосистемі водойми, в першу чергу бактеріо-, фітопланктоном і макрофітами, надалі бактеріо- і мікобентосом, нижчими ракоподібними й іншими організмами, інтенсивність росту та розвитку яких також залежить від ряду сезонних чинників: температури, освітлення, наявності кисню, біологічно доступних сполук фосфору та інших. Тому в природних водоймах дія сполук азоту на риб залежить від великого спектра додаткових чинників і відповідність між дозою та ефектом не завжди однозначна. Так, деякі зміни, зумовлені надходженням в екосистему мінерального азоту, можуть позитивно впливати на риб, стимулюючи розвиток кормової бази водойми, поліпшуючи газовий режим у результаті підвищення активності фотосинтезу водних рослин. Ряд фізіологічних і біохімічних показників риб істотно залежать від конкретних умов їх існування.

Метою роботи було вивчення впливу підвищеної концентрації сполук азоту на зміну низки фізіолого-біохімічних показників риб протягом їх довгострокової адаптації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти були проведені на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України.

Біологічним матеріалом для експериментів був короп (*Suprinus carpio L.*) української лускавої породи. В першій серії експериментів використовували риб, які досягли однорічного віку у водоймі з нормативними показниками якості води. Коропи з другої серії дослідів пройшли попередню однорічну преадаптацію до впливу надмірних концентрацій сполук мінерального азоту.

У контрольному ставку за весь період спостережень відмічений середній вміст амонійного азоту від 0,01 до 0,19 мг N/дм³ залежно від сезону року, нітритів — від 0,003 до 0,32; нітратів — від 0,10 до 0,52 мг N/дм³.

Характеристики 1 експериментального ставка за вмістом сполук алохтонного азоту мають проміжні значення. Так, середній вміст амонійного азоту коливається від 9,1 до 42,5 мг N/дм³ залежно від сезону року, нітритів — від 0,32 до 3,27, нітратів — від 6,27 до 29,54 мг N/дм³.

У воді 2 експериментального ставка містилася більша кількість усіх форм мінерального азоту: іонів амонію — від 26,3 до 62,5 мг N/дм³, нітритів — від 0,27 до 3,73, нітратів — від 10 до 37,73 N/дм³.

Вміст ліпідів (мг/г) визначався тест-методом біотест (Lachema, Чехія) після хлороформ-метанолової екстракції [9],

глікогену (мг %) — за допомогою антронового реагенту, кількість сумарних білків (мг/г) — за Лоурі [2].

Отримані дані оброблені статистично з допомогою програми Statistica 5.5.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Основними сполуками, які містять у собі переважну частину загального азоту в тканинах риб, є білки. Утилізація білків, характерна для риб, є основним джерелом надходження ендогенного азоту. Крім того, кінцевим продуктом азотного обміну є аміак [4]. Тому у риб виробилися досить активні механізми детоксикації, транспорту та виведення надлишкового аміаку з організму в зовнішнє середовище. Процеси детоксикації, транспорту та екскреції азоту відбуваються за участю амінокислот та транспортних білків, які в свою чергу є азотовмісними сполуками [6, 12].

Проведені дослідження вказують на те, що залежність між вмістом загального білка в м'язах, печінці, селезінці риб та концентрацією сполук алохтонного азоту у водному середовищі відсутня і тільки у ряді випадків цей показник залежить від дії токсиканта (рис. 1). Водночас вміст білка у плазмі крові риб істотно змінюється відповідно до сили діючого чинника.

Наприкінці вегетаційного періоду при зупиненні живлення та переході риб до зимівлі, в жовтні у м'язах та печінці дослідних риб вміст білка протягом усіх років спостережень достовірно на 4,9–37,8 та 21,7–65,1%, відповідно, переважав цей показник у контрольних риб. Причому найбільша різниця спостерігається між вмістом білка у коропів з більш забрудненого ставка сполуками алохтонного азоту та контрольними рибами. Але причиною цих відмінностей є значне накопичення ліпідів у печінці та м'язах контрольних груп риб у передзимовий період порівняно з піддослідними коропами.

Звертає на себе увагу те, що на початку та в середині вегетаційного періоду, коли показники біосинтетичної активності тканин печінки у всіх групах коропа максимальні, різниця вмісту білка в ній між контрольними та піддослідними рибами стає меншою.

Однією з причин підвищення вмісту білків у печінці піддослідних риб влітку є те, що у них як пойкилотермних тварин із зростанням температури середовища більш активно відбуваються процеси дезамінування, транспорту й екскреції аміаку в печінці — основному органі, який бере участь у детоксикації сполук азоту [5] та його трансдезамінування [7]. Завдяки підвищенню активності цих компенсаторних процесів токсичний вплив сполук алохтонного азоту знижується в сприятливих температурних умовах. Це свідчить про високу здатність коропів у вегетаційний період адаптуватися до впливу надмірних концентрацій сполук мінерального азоту.

У м'язах, зябрах та селезінці (рис. 1) контрольних та піддослідних риб відмічаються сезонні та вікові зміни вмісту сумарного білка. Зокрема в м'язах (жовтень), при переході до зимівлі спостерігається тенденція до зменшення цього показника через зростання частки запасних ліпідів у загальній масі тканини. Проте протягом 4 років експерименту реєструється виразніше зменшення вмісту білка в м'язах у контрольних риб, які функціонують у задовільних умовах і запасують ліпіди до зимівлі в достатній, властивій для цього виду кількості.

Несприятливі гідрологічні та гідрохімічні умови третього вегетаційного періоду, коли через маловодність забруднення експериментальних ставків сполуками алохтонного азоту досягала найвищого рівня (25–45 мг N/дм³ за іонами амонію), істотно не позначались на вмісті сумарного білка в м'язах, печінці та зябрах піддослідних риб.

При порівнянні даних вмісту білка в органах статевозрілих риб з 1 та 2 серій встановлено, що між контрольними особинами обох груп та піддослідними коропами другої серії не спостерігається відмінностей в накопиченні протеїнів у м'язах, печінці і зябрах. Риби з 1 серії у ставку, в якому містилося за весь період спостережень від 9,1 до 42,5 мг N/дм³, у літній період характеризувались зниженням вмісту білка в м'язах на 44,3% і збільшенням його в печінці та зябрах на 12,8 та 14,3%, відповідно, під впливом надмірного надходження азотних сполук у водойму.

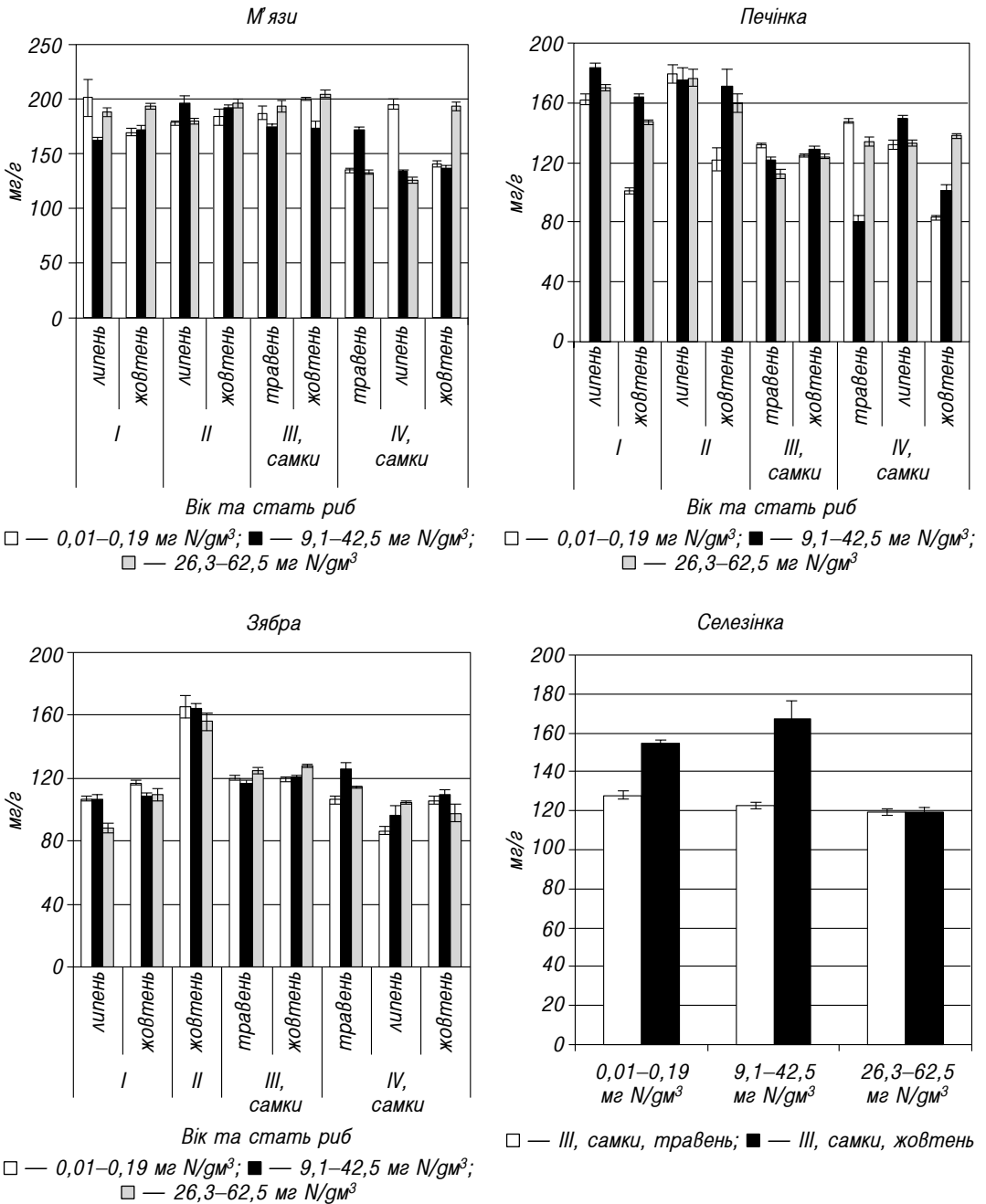


Рис. 1. Зміни вмісту білків у тканинах коропів під впливом сполук мінерального азоту

Встановлена різниця вмісту білка в органах та тканинах риб дає змогу припустити неоднакові рівні фізіологічного стану риб з різними термінами попереднього адаптування до дії мінерального азоту. Преадаптація відіграє помітну, позитивну роль у характері компенсаторної

відповіді та активності метаболічних процесів, які протидіють токсичному впливу підвищеного надходження сполук алохтонного азоту у водне середовище.

Вміст ліпідів як у м'язах, так і печінці піддослідних та контрольних риб негативно корелює з кількістю білка в

них. Так, вміст ліпідів у м'язах та печінці в перший і в другий рік досліджень має як схожу тенденцію змін, так і значну відмінність. В осінній період у контрольних риб сума ліпідів у м'язах вища, ніж у піддослідних у 3,1–1,8 раза, і 2,2–1,9 раза перебуває в прямій залежності від концентрації сполук мінерального азоту у воді. Цей факт свідчить про те, що риби із забруднених ставків переходять до зимівлі, не маючи в своєму розпорядженні

достатнього запасу макроергічних сполук (рис. 2).

На другий рік досліджень у печінці контрольних риб спостерігаються сезонні коливання вмісту ліпідів на вищому порівняно з попереднім роком загальному рівні. У контрольних риб у літній період кількість ліпідів у печінці знижується, а до осені вона знову підвищується, хоча у піддослідних риб це явище не встановлено. Кількість ліпідів

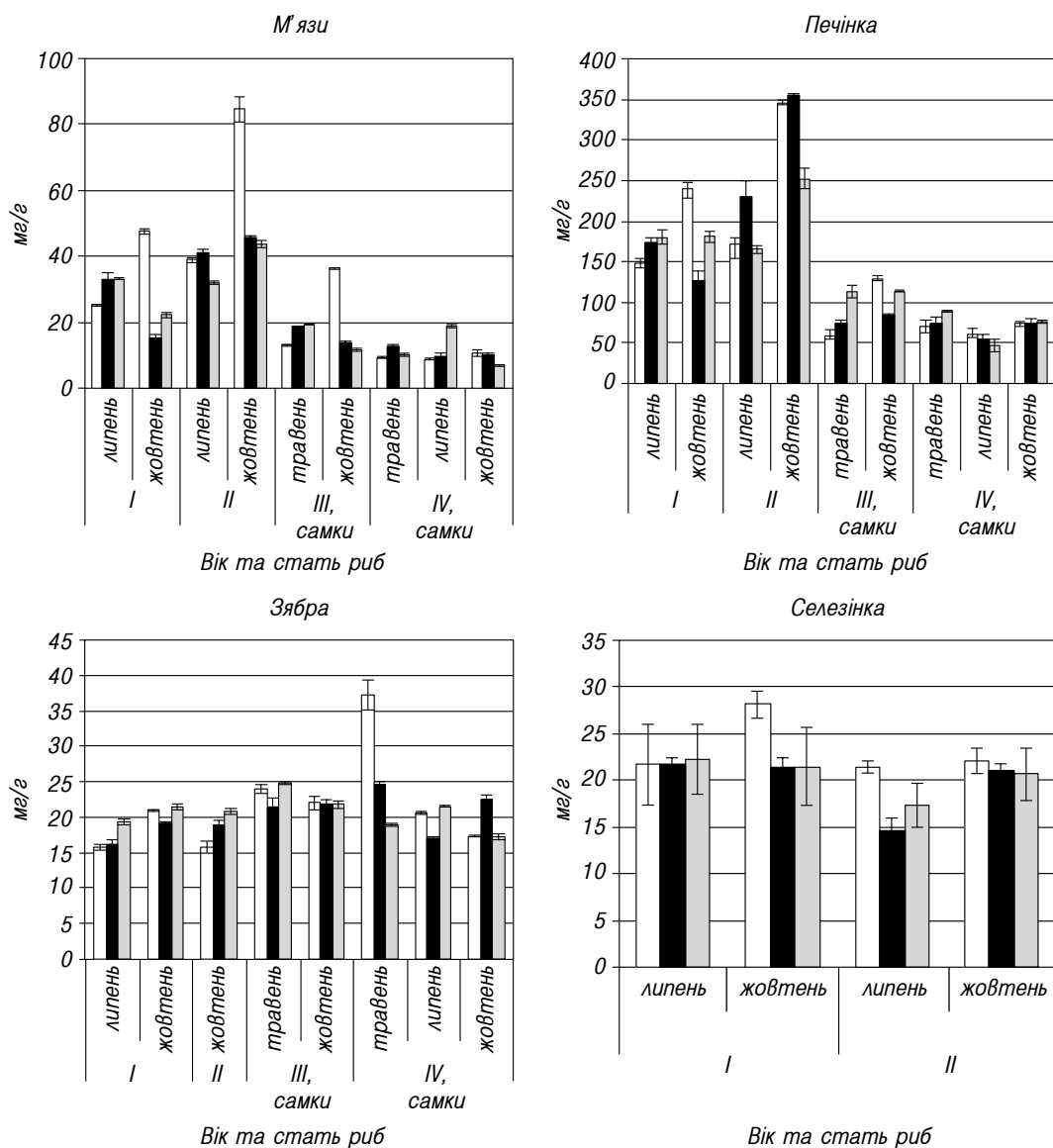


Рис. 2. Зміни вмісту ліпідів у тканинах коропів під впливом алохтонного азоту: □ — 0,01–0,19 мг N/дм³; ■ — 9,1–42,5 мг N/дм³; ▒ — 26,3–62,5 мг N/дм³

у печінці риб, які підлягали дії алохтонного азоту, поступово зростала від попередньої до наступної осені. Можливо, через токсичну дію водного середовища в печінці коропів на другий рік досліджень утилізація ліпідів у період весна–осінь знижується, а реєструється лише їх накопичення. Отже, якщо у риб при дії амонійного азоту 13,1–22,4 мг N/дм³ загальний вміст ліпідів у печінці восени перевищував контрольні значення на 2,8%, то у риб під впливом 15,4–29,8 мг N/дм³ іонів амонію був нижчим на 27%. Очевидно, дефіцит накопичення ліпідів у печінці піддослідних риб призводить до порушення здатності нормальної утилізації запасних речовин, наслідком чого є зниження їх виживання у низькотемпературних умовах.

Вміст ліпідів у м'язах риб постійно змінюється, виявляючи доволі значні сезонні коливання (рис. 2). У м'язах піддослідних та контрольних риб у жовтні містила достовірно вища кількість ліпідів, які накопичували у тканині в процесі підготовки до зимівлі. Проте гармонічно й однозначно цей процес відбувається лише у контрольних риб. Так, на першому році експерименту вміст ліпідів у їх м'язах зростає на 88,5% порівняно з цим показником, який спостерігався у коропів у середині вегетаційного періоду, та 117,1; 21,1% відповідно під час другого і четвертого років експерименту. На відміну від контрольних особин у риб, які підлягали дії сполук алохтонного азоту, виявлялись вірогідні відхилення від нормальних сезонних коливань вмісту ліпідів у м'язах.

Подібні закономірності спостерігаються і при аналізі вмісту ліпідів у печінці контрольних і піддослідних риб. Зокрема у риб, які підлягали дії сполук мінерального азоту, в травні і липні вміст ліпідів перевищував цей показник, визначений у них у жовтні, і був вищим, ніж у контролі. За надмірної кількості кормових організмів (другий рік дослідження) у забруднених ставках риби мали однакові значення вмісту ліпідів з контрольними.

Отримані дані свідчать, що риби, які перебувають у стані токсичного навантаження сполуками азоту, у вегетаційний період активніше вживають кормові

організми, процеси їх росту, синтезу і накопичення білків, ліпідів у м'язах та печінці відбуваються інтенсивніше, ніж у контролі. Проте восени в період підготовки до наступної зимівлі піддослідні риби виявляються з меншим вмістом ліпідів, а отже, недостатньо підготовленими до умов зимового голодування.

Крім того, аналіз отриманого матеріалу дає змогу стверджувати про наявність ще інших додаткових факторів, які мають істотний вплив на рівень вмісту ліпідів у тканинах риб, зокрема наявність кормових об'єктів у водоймі.

Вміст ліпідів в активно функціонуючих і вузькоспеціалізованих органах — селезінці і зябрових пелюстках був значно стабільнішим і не залежав від рівня вгодованості чи виснаження риб. Зокрема на початку травня після виходу риб з зимівлі і пов'язаними з нею несприятливими факторами (голодування, низькі температури, гірший кисневий режим) у пелюстках зябер вміст ліпідів як піддослідних, так і контрольних риб перевищував цей показник, визначений в липні чи жовтні.

Наявність сезонних змін вмісту ліпідів у селезінці піддослідних риб найбільш вірогідно пов'язаний з тим, що функціонування цього органу активізується надходженням нітритів, оскільки у відповідь на гематотоксичну дію цієї сполуки компенсаторним механізмом виявляється інтенсифікація еритропоезу.

Порівнюючи дані двох серій експерименту видно, що преадаптовані коропи активніше використовують запаси ліпідів печінки в процесах, задіяних у підвищенні їх толерантності до дії алохтонного азоту. Внаслідок цього в печінці спостерігається значно менша кількість жирів при дії токсичного фактора (на 10,1; 34,6% порівняно з контролем першої та другої серії). Цей факт свідчить також про більш енергоємні процеси метаболізму, які проходять у період пристосування риб до дії токсичного середовища, при чому частка енерговитрат припадає і на прискорений ріст піддослідних риб. Але враховуючи те, що темпи росту коропів з першої та другої серії експериментів не дуже відрізнялись, можливо стверджувати, що більш адаптовані риби за рахунок використання енергії ліпідів мають дещо

інші механізми пристосування до дії несприятливих факторів навколишнього середовища.

Таким чином, токсичний вплив сполук алохтонного азоту зумовлював порушення сезонного накопичення ліпідів в органах і тканинах риб. Особливе значення це має в передзимовий період, коли риби входять у стан зимівлі зі зниженим вмістом загальних ліпідів у печінці та м'язах.

Динаміка вмісту глікогену в основних органах та тканинах коропів, які перебували під дією мінеральних сполук азоту, в цілому відповідає закономірностям, що спостерігаються і для накопичення ліпідів. Влітку переважно в усіх тканинах піддослідних риб відмічаються більші значення вмісту глікогену порівняно з контролем, восени напередодні переходу риб до зимівлі значно підвищується вміст глікогену у контрольних особин, а у піддослідних риб спостерігаються або такий самий його вміст, або дещо нижчий, ніж влітку (рис. 3). По закінченню зимівлі на початку травня в м'язах піддослідних риб накопичення глікогену перевищує контрольні значення в 2–3 рази (при 10–15 мг N/дм³ іонів амонію) або не відрізняється (при 15–25 мг N/дм³), а в печінці — в 3–10 разів. Причому спостерігається пряма залежність між концентрацією сполук алохтонного азоту у воді та вмістом глі-

когену у печінці коропів. По-перше, це свідчить про активне використання катаболізму білків у ході зимівлі риб. Відомо, що утворення глікогену відбувається за рахунок та на основі катаболізму білків [13]. Оскільки катаболізм білків білих м'язів є одним з основних джерел енергії під час низькотемпературного перебування риб, утилізація білків переважає, тому на початку зимівлі вміст глікогену в м'язах та печінці був нижчим, ніж після її закінчення. По-друге, при довгостроковій зимівлі коропів, які перебували під дією алохтонного азоту, утилізація глікогену, як і ліпідів знижується, що свідчить про перехід риб у стан гіпобіозу, знижену метаболічну активність у піддослідних риб та переважання пасивної системи їх захисту від токсичного середовища.

Одним зі способів протидії гіпоксії, яку спричиняє інтоксикація сполуками азоту, може бути зростання вмісту глікогену у печінці [8]. Також можливо включення анаеробного гліколізу, який знижує вимогливість риб до кисневих та температурних умов, а також дещо нейтралізує гемотоксичну дію мінерального азоту [11] і запобігає масовій загибелі риб.

Влітку 4 року експериментів у піддослідних риб посилились процеси формування репродуктивної системи, більша частина самиць була у стані після

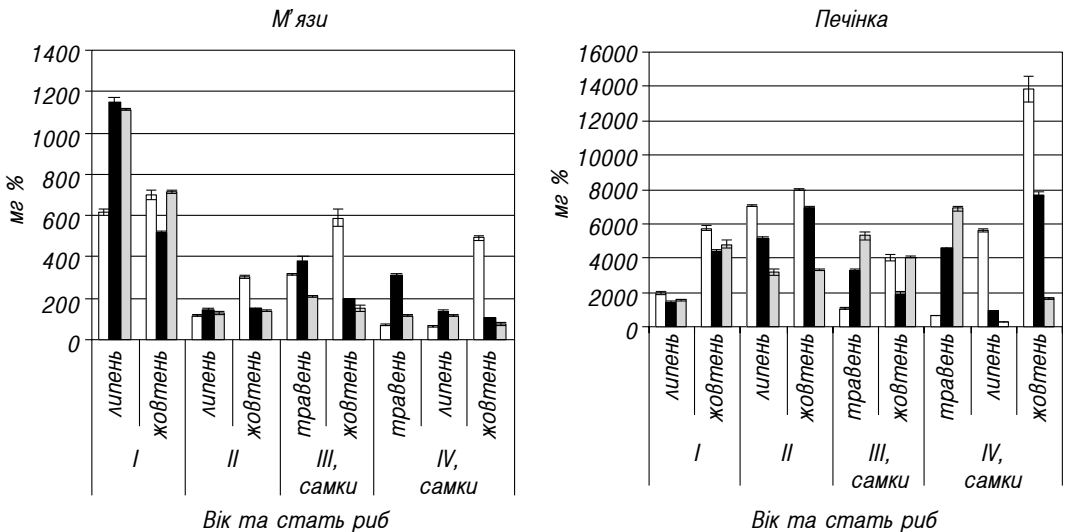


Рис. 3. Сезонні зміни вмісту глікогену в тканинах коропів під впливом алохтонного азоту: □ — 0,01–0,19 мг N/дм³; ■ — 9,1–42,5 мг N/дм³; ▒ — 26,3–62,5 мг N/дм³

успішного проходження нересту. Це не могло не позначитися на показниках накопичення глікогену в органах і тканинах риб, оскільки енергія цієї сполуки широко використовувалась у процесі генеративного та соматичного росту. Тому порівняльний аналіз даних вмісту глікогену в органах самиць першої та другої серії свідчить лише про ступінь розвитку гонад у них. У всіх вивчених групах риб значних відмінностей за цим показником вуглеводного обміну для м'язів та зябер не спостерігалось. Кількість глікогену в печінці піддослідних риб за наявності високих концентрацій алохтонного азоту знижувалась у 4–5,9 раз порівняно з контролем. Причому краще дозрілі самиці коропа (перша серія) значно більше вичерпували запаси глікогену в печінці, ніж молодші риби з другої серії.

Безперечно, ми спостерігаємо сумісну дію алохтонного азоту та посиленого генеративного росту коропів на вміст глікогену в їх печінці як органу однією з функцій якого є його синтез та депону-

вання. Виходячи з даних, отриманих для різних груп риб під впливом мінеральних сполук азоту, можливо зазначити, що основні відмінності вмісту глікогену в органах і тканинах пов'язані зі ступенем розвитку репродуктивної системи та стадією зрілості статевих продуктів.

Висновки. Таким чином, на підставі загально-біохімічних показників (вмісту загальних білків, ліпідів та глікогену) органів та тканин риб, які підлягають дії різних концентрацій азотистих сполук, можливо стверджувати, що спрямованість біосинтетичної активності та баланс між синтезом і утилізацією основних макроергічних сполук залежить від температурних умов існування риб, сили впливу токсичного навантаження та енергоємності й ефективності функціонування адаптаційних і компенсаторних процесів, спрямованих на протидію токсикантам.

В умовах токсичного навантаження вміст ліпідів, глікогену та білків в органах значно залежить від віку риб та стадії розвитку репродуктивної системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грубинко В.В. Роль глутаміна в забезпеченні азотистого гомеостазу у риб (обзор) // Гидробиол. журн. — 1991. — 27, № 4. — С. 46–56.
2. Практикум по біохімії / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 510 с.
3. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические показатели годовых циклов рыб. — М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1972. — 368 с.
4. Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А.Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Успехи совр. биол. — 1993. — Vol. 113, № 5. — С. 576–586.
5. Campbell J.W., Aster P.L., Vorhaben J.E. Mitochondrial ammoniogenesis in liver of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) // Am. J. Physiol. — 1983. — Vol. 244. — P. 709–717.
6. Frick N. T., Wright P.A. Alteration in the nitrogen metabolism of *Rivulus marmoratus* under conditions of prolonged air exposure — adaptations for survival // Fish Toxicology Fish Toxicology. Symposium proceedings. International Congress on the Biology of Fish University of Aberdeen, Scotland, July 23–27. — 2000. — P. 37–39.
7. Hayashi S., Kunihiro K., Itakura T., Ooshiro Z. Biochemical properties of glutamate dehydrogenase purified from eel liver // Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. — 1982. — Vol. 48. — P. 697–701.
8. Huey D.W., Beitinger T.L. A haemoglobin reductase system in channel catfish *Ictalurus punctatus* // Canadian Journal of Zoology. — 1982. — Vol. 60. — P. 1511–1513.
9. Knight J.A., Anderson Sh., Rawle J.M. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids // Clinical chemistry. — 1972. — Vol. 18, № 3. — P. 199–202.
10. Meinnelt T., Schreckenbach K., Stuber A., Steinert C. Fischtoxizität von nitric // Fischer und Teichwirt. — 1997. — Vol. 48, № 10. — P. 421–426.
11. Perrone S.J., Meade T.L. Protective effect of chloride on nitrite toxicity to coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // J. Fish. Res. Board Can. — 1977. — Vol. 34. — P. 486–492.
12. Saha N., Dutta S., Bhattacharjee A. Role of amino acid metabolism in an air-breathing catfish, *Clarias batrachus* in response to exposure to a high concentration of exogenous ammonia // Comp. Biochem. Physiol. — 2002, B133. — P. 235–250.
13. Smutna V., Vorlova Z., Svobodova Z. Pathobiochemistry of ammonia in the internal environment of fish (Review) // Acta Vet. Brno, 2002. — Vol. 71. — P. 169–181.
14. Yama-gata Y., Niva M. Токсичность нитрита для угрей // Суйсан дзоскку, Aquaculture, 1979. — Vol. 27, № 1. — С. 5–11.

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОБЩИХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАРПОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ АЛОХТОННОГО АЗОТА

А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский, Н.А. Могилевич

Исследовано влияние аллохтонного азота на содержание общего белка, липидов и гликогена в органах карпа. Отмечено, что баланс между синтезом и утилизацией макроэргических соединений зависит от температуры воды, силы действия токсической нагрузки и эффективности функционирования адаптационных и компенсаторных механизмов в организме.

SEASONAL CHANGES OF GENERAL BIOCHEMICAL INDEXES OF CARPS UNDER COMPOUND OF ALOCHTHONIC NITROGEN ACT

O. Potrohov, O. Zinkovskyi, N. Mogylevych

Influence allochthonous nitrogen on the contents of the total protein, lipids and glycogen in organs of a carp is investigated. It is marked, that the balance between synthesis and utilization high-energy compounds depends on temperature of water, force of action of toxic loading and efficiency of functioning adaptable and compensatory mechanisms in an organism.

УДК 556.53 (477)

ГІДРОЕКОЛОГІЯ р. НИВКА: СУЧАСНИЙ СТАН ТА ВИХОДИ ІЗ ЕКОЛОГІЧНИХ РИЗИКІВЙ.В. Гриб¹, Ю.М. Ситник¹, М.О. Борбат²¹ Інститут гідробіології НАН України, м. Київ,² Інститут рибного господарства НААН України, м. Київ

Розглянуто екологічний стан р. Нивка, можливості її реабілітації та природокористування. Визначено лімітуючі чинники забруднення.

У густонаселених районах країни зараз майже не залишилося водойм із природним гідрологічним режимом та хімічним складом, не порушених антропогенною діяльністю. Найбільше це стосується мегаполісів та міських агломерацій, до яких з повним правом можна віднести і м. Київ. За даними Держкомстату України, майже чверть загального об'єму забруднених стічних вод надходить у водойми без будь-якого очищення. Загалом по країні за 2009 р. скинуто неочищеними 980 млн м³ стоків, що майже вдвічі більше, ніж у 1990 р. Понад 90% забруднених стічних вод припадають на промислово-розвинені регіони, серед яких одне з чільних місць займає і м. Київ [1, 2, 12, 18].

Річка Нивка є однією із найбільших малих річок м. Києва і має загальну довжину 23 км. Починається вона у підзем-

ному колекторі біля Льодового стадіону Голосіївського району. Далі тече у колекторі повз житловий масив Теремки-2 до вул. Крейсера Аврори і перетинаючи її під прямим кутом виходить у відкрите русло вже у межах Солом'янського району.

У межах Голосіївського району на відстані 10–15 м від колектора, від вул. В. Касіяна до вул. акад. Вільямса, розташовані три копані ставки площею 0,81; 0,37 і 0,44 га, відповідно. Наповнення ставків відбувається за рахунок поверхневого стоку, підземних вод і атмосферних опадів. Ставки каскадні, водопостачання їх взаємозалежне. Із ставка № 3 вода скидається у закритий колектор р. Нивка. Серед джерел негативного впливу на навколишнє середовище відкритого русла і трьох ставків Голосіївського району можна виділити забруднення берегів і води річки мешканцями житлового ма-