

ВПЛИВ ХЛОРИДУ АМОНІЮ ТА МОНОФОСФАТУ КАЛІЮ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ МОЛОДІ КРАСНОПІРКИ ЗВИЧАЙНОЇ (*SCARDINIUS ERYTHROPTHALMUS* LINNAEUS, 1758)

К. Кофонов, kirillkofonov16@gmail.com, Інститут гідробіології НАН України, м. Київ
О. С. Потрохов, alport@bigmir.net, Інститут гідробіології НАН України, м. Київ
О. Г. Зіньковський, hydrobiol@igb.ibc.com.ua, Інститут гідробіології НАН України, м. Київ

Мета. Дослідити особливості фізіолого-біохімічного стану молоді краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* L.) за хронічної дії підвищених концентрацій хлориду амонію та монофосфату калію.

Методика. Дослідження проводили на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. В 14-ти добових дослідках використовували хлорид амонію та монофосфат калію. Проведення експериментів відповідає принципам біоетики.

Активність лактатдегідрогенази та лужної фосфатази встановлено за допомогою відповідних тест-наборів. Активність сукцинатдегідрогенази визначали спектрофотометричним методом. Активність глутаматдегідрогенази встановлювали згідно з методом Хохлова. Вміст загального білка у м'язах та зябрах визначали за методом Лоурі, вміст загальних ліпідів — з використанням тест-набору «Загальні ліпіди», вміст глікогену — антроновим методом.

Результати. За впливу йонів амонію посилюється як аеробне, так і анаеробне дихання за показниками активності сукцинатдегідрогенази та лактатдегідрогенази. Напроти, за дії монофосфату калію активність цих ферментів знижується.

За активністю лужної фосфатази встановлено, що процеси дефосфорилування за впливом досліджених сполук послаблюються. За концентрації йонів амонію вище ніж 5,0 мг N/дм³ вони значно зростають. Хлорид амонію змінює активність глутаматдегідрогенази, яка активно задіяна у азотному обміні; ортофосфат-йон в цих процесах не задіяний.

Вміст глікогену за дії хлориду амонію показував тенденції до накопичення за невисоких концентрацій, що, очевидно, пов'язано з активацією процесів глюконеогенезу для забезпечення гомеостазу організму за таких умов. За дії монофосфату калію спостерігалось використання глікогену на забезпечення енергетичних потреб організму. За вищих концентрацій спостерігалось зниження процесів його накопичення, вірогідно, у зв'язку з його використанням на процеси адаптації.

За рахунок ферментативного регулювання обмінних процесів суттєво змінюються величини вмісту ліпідів та білка в тканинах молоді краснопірки за дії досліджених сполук.

Наукова новизна. Отримані дані доповнюють і розширюють наявні наукові знання щодо закономірностей зміни активності ферментів енергетичного, білкового та ензимів процесів дефосфорилування у тканинах молоді корошових видів риб за дії високих концентрацій біогенних елементів, зокрема хлориду амонію та монофосфату калію.

© К. Кофонов, О. С. Потрохов, О. Г. Зіньковський, 2020



Практична значимість. Подібні зміни активності ферментів, вмісту енергоємних речовин (білків, ліпідів, глікогену) потенційно можуть бути використані як біохімічні маркери-індикатори, що вказують на наявність токсичного навантаження у водоймі. До такого навантаження можна віднести підвищені рівні хлориду амонію та монофосфату калію, що може виникати в результаті нераціонального використання амонійних та фосфорних добрив на аграрних площах та змиву з них, стоків з тваринницьких комплексів та скидів з підприємств.

Ключові слова: молодь краснопірки звичайної, активність ферментів, енергоємні сполуки, хлорид амонію, монофосфат калію, токсичний вплив.

THE EFFECT OF AMMONIUM NITROGEN AND PHOSPHORUS OF PHOSPHATES ON THE BIOCHEMICAL PARAMETERS OF JUVENILE RUDD (*SCARDINIUS ERYTHROPHthalmus* LINNAEUS, 1758)

K. Kofonov, kirillkofonov16@gmail.com, Institute of hydrobiology NAS of Ukraine, Kyiv
A. Potrokhov, alport@bigmir.net, Institute of hydrobiology NAS of Ukraine, Kyiv
O. Zinkovskiy, hydrobiol@igb.abc.com.ua, Institute of hydrobiology NAS of Ukraine, Kyiv

Purpose. To study the physiological and biochemical state of juvenile rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) under the chronic effect of high concentrations of ammonium nitrogen and phosphorus of phosphates.

Methodology. The study was conducted at the Bila Tserkva Experimental Hydrobiological station of the Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine. Ammonium chloride and potassium monophosphate were applied in 14-day experiments. During the experiments, we did not violate the bioethics principles.

The activities of lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase were determined using appropriate test kits. The succinate dehydrogenase activity was determined by a spectrophotometric method. Glutamate dehydrogenase activity was determined by the Khokhlov. The total protein content in the muscles and gills was determined according to the Lowry method, the total lipid content was determined using the "Total lipids" test kit, and the glycogen content was determined by the anthrone method.

Findings. Ammonium ions enhance both aerobic and anaerobic respiration processes as evidenced by SDH and LDH activities. On the contrary, the activity of these enzymes decreases due to the action of phosphorus of phosphates.

According to ALP activity, it was found that the studied compounds weaken de-phosphorylation processes. These processes significantly increase only at a concentration of ammonium ions above 5.0 mg N/dm³. Only ammonia nitrogen changes the activity of glutamate dehydrogenase, which is actively involved in nitrogen metabolism, orthophosphate ion is not involved in these processes.

The glycogen content due to the action of ammonium nitrogen showed a tendency to accumulate at low concentrations, which is obviously associated with the activation of gluconeogenesis processes to ensure the homeostasis of the body under such conditions. The action of phosphorus of phosphates resulted in the use of glycogen to ensure the energy needs of the body. At higher concentrations, a decrease in the processes of its accumulation was observed, probably as a result of its parallel use for adaptation processes.

As a result of the enzymatic regulation of metabolic processes, the contents of lipids and protein in the tissues of juvenile rudd change significantly due to the actions of the studied compounds.

Originality. The obtained data supplement and expand the existing scientific knowledge on the patterns of changes in enzymatic activities of energy and protein metabolisms as well as dephosphorylation processes in the tissues of juvenile fish species under the effect of high concentrations of nutrients, in particular ammonium nitrogen and phosphorus of phosphates.



Practical value. Similar changes in the amount of enzyme activity and the content of energy-intensive substances (proteins, lipids, glycogen) can be used as a biochemical marker indicating the presence of a toxic load in a water body. It can include elevated levels of ammonium nitrogen and phosphorus of phosphates, which is possible as a result of the irrational use of ammonium and phosphorus fertilizers on agricultural areas and runoff from them, effluents from livestock complexes and volley of discharges from the industry.

Key words: juvenile rudd, enzyme activity, energy-intensive compounds, ammonium nitrogen, phosphorus phosphates, toxic effects.

ВЛИЯНИЕ АММОНИЙНОГО АЗОТА И МОНОФОСФАТА КАЛИЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ КРАСНОПЁРКИ (SCARDINIUS ERYTHROPHthalmus LINNAEUS, 1758)

К. Кофонов, kirillkofonov16@gmail.com, Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

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

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

Цель. Исследовать особенности физиолого-биохимического состояния молоди краснопёрки обычной (*Scardinius erythrophthalmus* L.) при хроническом воздействии повышенных концентраций аммонийного азота и фосфора фосфатов.

Методика. Исследования были проведены на Белоцерковской экспериментальной гидробиологической станции Института гидробиологии НАН Украины. В 14-ти суточных опытах использовали хлорид аммония и монофосфат калия. В ходе экспериментов руководствовались принципами биоэтики.

Активность лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы определяли с помощью соответствующих тест-наборов. Активность сукцинатдегидрогеназы — спектрофотометрическим методом. Активность глутаматдегидрогеназы — по Хохловым. Содержание общего белка в мышцах и жабрах определяли по методу Лоури, содержание общих липидов — с использованием тест-набора «Общие липиды», содержание гликогена — антроновым методом.

Результаты. Под влиянием ионов аммония усиливается как аэробное, так и анаэробное дыхание по показателям активности сукцинатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы. Напротив, под действием фосфора фосфатов активность этих ферментов снижается.

По активности щелочной фосфатазы установлено, что процессы дефосфорилирования под влиянием исследованных веществ ослабевают. При концентрации ионов аммония выше 5,0 мг N/дм³ они значительно возрастают. Аммонийный азот изменяет активность глутаматдегидрогеназы, активно задействованной в азотистом обмене; ортофосфат-ион в этих процессах не задействован.

Содержание гликогена под действием аммонийного азота демонстрировало тенденцию к накоплению при невысоких концентрациях, что, очевидно, связано с активацией процессов глюконеогенеза для обеспечения гомеостаза организма в таких условиях. Под действием фосфора фосфатов наблюдалось использование гликогена на обеспечение энергетических потребностей организма. При более высоких концентрациях наблюдалось снижение интенсивности процессов его накопления, вероятно, в связи с его использованием на процессы адаптации.

За счет ферментативного регулирования обменных процессов существенно изменяются уровни содержания липидов и белка в тканях молоди краснопёрки при воздействии исследованных соединений.



Научная новизна. Полученные данные дополняют и расширяют имеющиеся научные знания о закономерностях изменения активности ферментов энергетического, белкового обмена и процессов дефосфорилирования в тканях молоди карповых видов рыб под воздействием высоких концентраций биогенных элементов, в частности аммонийного азота и фосфора фосфатов.

Практическая значимость. Подобные изменения в количестве ферментов, их активности, содержании энергоемких веществ (белков, липидов, гликогена) могут быть использованы в качестве биохимических маркеров-индикаторов, указывающих на наличие токсической нагрузки в водоеме. К таковой можно отнести повышенные уровни аммонийного азота и фосфора фосфатов, что возможно в результате нерационального использования аммонийных и фосфорных удобрений на аграрных площадях и смывов с них, стоков с животноводческих комплексов и сбросов предприятий.

Ключевые слова: молодь краснопёрки, активность ферментов, энергоемкие соединения, аммонийный азот, фосфор фосфатов, токсическое воздействие.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Антропогенне навантаження суттєво погіршує екологічний стан навколишнього середовища, в тому числі, знижуючи якість води. Встановлено, що у поверхневих водах басейну р. Дніпро найбільш істотно змінюється концентрація біогенних елементів (фосфат-йонів та неорганічних форм азоту). Азотисті і фосфоровмісні сполуки є основною складовою індустріальних та комунальних стоків і змивів з сільськогосподарських угідь мінеральних добрив та стічних вод тваринницьких комплексів. Також біогени є кінцевим продуктом деградації і подальшої мінералізації органічної речовини відмерлих організмів [1–3]. За високої концентрації азотистих сполук та фосфатів суттєво змінюється рН водного середовища; через токсичність окремих сполук азоту значно знижується життєздатність гідробіонтів [4]. Такі основні особливості вказаних сполук підкреслюють їхню подвійну природу: як біогенних елементів, які стимулюють розвиток первинних продуцентів і підвищують біопродуктивність водойми, а також як чинників негативного впливу — токсикантів широкого спектру дії. При цьому надмірна кількість азотистих сполук та фосфатів у воді погіршує фізіологічний стан водних організмів, і, як наслідок, обмежує біопродуктивний потенціал водних екосистем.

У воді амонійний азот представлений у вигляді: NH_3 — неіонізованої чи молекулярної форми — аміаку, та NH_4^+ — іонізованої — амонію. Амонійний іон має дещо нижчу біологічну проникність, ніж аміак, і поглинається зябрами риб з меншою інтенсивністю [5, 6]. Однак аміак може поглинатися з води рибами, і, переходячи в іон амонію в організмі риб, може викликати пошкодження клітин та тканин риб [7–10].

Питання щодо токсичності неорганічних форм азоту, зокрема найбільш токсичної їх форми — аміаку, для водних тварин, особливо для риб, досить широко досліджено і висвітлено в сучасній літературі [11–17]. Встановлено, що у риб, які знаходилися під дією високих концентрацій аміаку, виявлялися симптоми інтоксикації отрутою нервово-паралітичної та загальної дії. Показано, що концентрація аміаку у воді вище $0,2 \text{ мг/дм}^3$ знижує життєстійкість риб [18]. Але вплив хлориду амонію на фізіолого-біохімічний стан молоді риб, зокрема



краснопірки звичайної, досліджено недостатньо.

Антропогенне забруднення водойм збільшує надходження сполук фосфору, що також призводить до негативних наслідків для водних об'єктів [19–21]. Концентрація сполук фосфору в природних водоймах значною мірою залежить від їх надходження іззовні та інтенсивності використання біотою. Гідробіонти засвоюють фосфор водного середовища у формах ортофосфату та фосфорних ефірів. Однак надмірна кількість фосфору згубно впливає на життєдіяльність гідробіонтів та риб [22–25]. Риби на ранніх стадіях розвитку найбільш чутливі до токсичної дії різноманітних отрут. Молодь риб більш вразлива до шкідливого впливу сполук фосфору [26]. Проте вплив фосфатів на риб, а особливо на їхню молодь, виявлено не було.

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ.

За останні роки з'явилася значна кількість робіт, які засвідчують велике екологічне значення окремих абіотичних та антропогенних чинників для риби: показано вплив різноманітних забруднювачів на інтенсивність перебігу метаболічних процесів, біохімічні зміни органів і тканин в онтогенезі в різні пори річного циклу, за зимівлі, голодування тощо. Проте, незважаючи на актуальність проведених досліджень, вплив хлориду амонію та ортофосфату на фізіолого-біохімічний стан молоді риби вивчений недостатньо.

Тому метою наших досліджень було встановлення закономірностей змін фізіолого-біохімічного стану молоді краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* L.) за хронічної дії підвищених концентрацій хлориду амонію та монофосфату калію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України в модельних експериментах. Хронічні токсикологічні досліди з визначення впливу різних концентрацій йонів амонію та ортофосфату на життєздатність і фізіологічний стан молоді риби здійснювали протягом 14 діб у акваріумах ємністю 30 дм³ з розрахунком, щоб об'єм діючих розчинів токсикантів перевищував масу риби у 100–300 разів. Тобто, наявність та життєдіяльність біологічного об'єкта суттєво не впливали на хімічний склад експериментального середовища. В дослідках використовували хлорид амонію в концентрації 1,0–15,0 мг N/дм³ та монофосфат калію в концентрації 0,5–5,0 мг P/дм³. Щоденно проводили заміну 1/3 розчинів препаратів в експериментальних ємностях. В акваріуми поміщали по 30 екз. цьоголіток краснопірки масою 2,7–5,2 г та довжиною 44,5–60,8 мм.

Контрольна група риби знаходилась в аналогічному за об'ємом акваріумі з водою з р. Рось, в якій концентрація амонійного азоту становила 0,21 мг N/дм³, фосфору — 0,06 мг P/дм³, що значно менше, в порівнянні з ГДК_{рибогосп.} [27].

Під час проведення досліджень керувалися принципами біоетики.

Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та лужної фосфатази (ЛФ) визначали за допомогою тест-наборів «ЛДГ», «Лужна фосфатаза» (ТОВ «НВП Філісіт-Діагностика», Україна). Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) — згідно з



фотометричним методом Єщенка та Вольського [28]. Активність глутаматдегідрогенази (ГДГ) встановлювали за методом Хохлова та ін. [29]. Активність ферментів визначали на спектрофотометрі СФ-26 за довжини хвилі 365, 530 та 420 нм.

Вміст загального білка у м'язах та зябрах визначали згідно з методом Лоурі [30], вміст загальних ліпідів — з використанням тест-набору «Загальні ліпіди» (ТОВ «НВП Філісіт-Діагностика», Україна), вміст глікогену — антроновим методом [31]. Вміст органічних сполук виявляли фотометричним методом на фотоелектроколориметрі КФК-2МП за довжини хвилі 750, 530 та 620 нм.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами токсикологічних дослідів встановлено, що детоксикація та екскреція рибами надлишку амонійного азоту та фосфору потребує збільшення енергетичних витрат з використанням запасних речовин. Важлива роль у енергозабезпеченні пристосування риб до токсичного середовища належить ферментативним системам. Це забезпечує процеси фізіологічної адаптації риб до токсичного водного середовища.

Активність ферментів енергетичного обміну, зокрема ЛДГ та СДГ, свідчить про напрямок та інтенсивність процесів анаеробного або аеробного генерування енергії. Встановлено, що у відповідь на токсичну дію хлориду амонію посилюється активність як ЛДГ, так СДГ в тканинах молоді краснопірки. Так, активність ЛДГ в м'язах при концентрації йонів амонію 1,0–15,0 мг N/дм³ достовірно зростала на 53–65% відносно контролю (рис. 1 / Fig.1). Ще більше зростала активність СДГ у м'язах (у 2,5–3,8 раза). Також підвищилася активність цих ферментів в зябрах на 34,3–70,4% для ЛДГ та у 2,3–6,3 раза для СДГ відносно контролю за концентрації 2,5–15,0 мг N/дм³. Це пояснюється високими енерговитратами в зябрах, спрямованими на процеси знешкодження та екскреції хлориду амонію. Таким чином, у відповідь на токсичний вплив йонів амонію посилюється як анаеробне дихання риб, так і аеробне, яке домінувало в цих процесах.

За впливу ортофосфат-йону активність ЛДГ в м'язах молоді краснопірки при концентрації 0,5–2,5 мг P/дм³ не змінювалася відносно контролю. Проте її активність в зябрах за цих концентрацій знижувалася на 15–33%. Лише за концентрації 5,0 мг P/дм³ активність ЛДГ у зябрових пелюстках зросла на 19,8% порівняно з контролем, що свідчить про посилення гліколізу за цих умов.

Активність СДГ за дії ортофосфат-йону в м'язах та зябрах молоді краснопірки достовірно знижувалася. Так, в м'язах зафіксовано зниження активності цього ферменту за концентрацій 0,5–5,0 мг P/дм³ на 43,1–51,8% відносно контролю, у зябрах — на 16,8–49,7% за вмісту 0,5–5,0 мг P/дм³. Це свідчить про помірну токсичність ортофосфат-йону в досліджених концентраціях на організм краснопірки.

Також було проведено дослідження активності деяких інших маркерних ферментів. Лузна фосфатаза (ЛФ) є власним ферментом плазматичної мембрани і зустрічається практично у всіх типах тваринних клітин. Будь-яка зміна чинників середовища, зокрема високий вміст токсикантів, може впливати на активність лузної фосфатази [32–35].



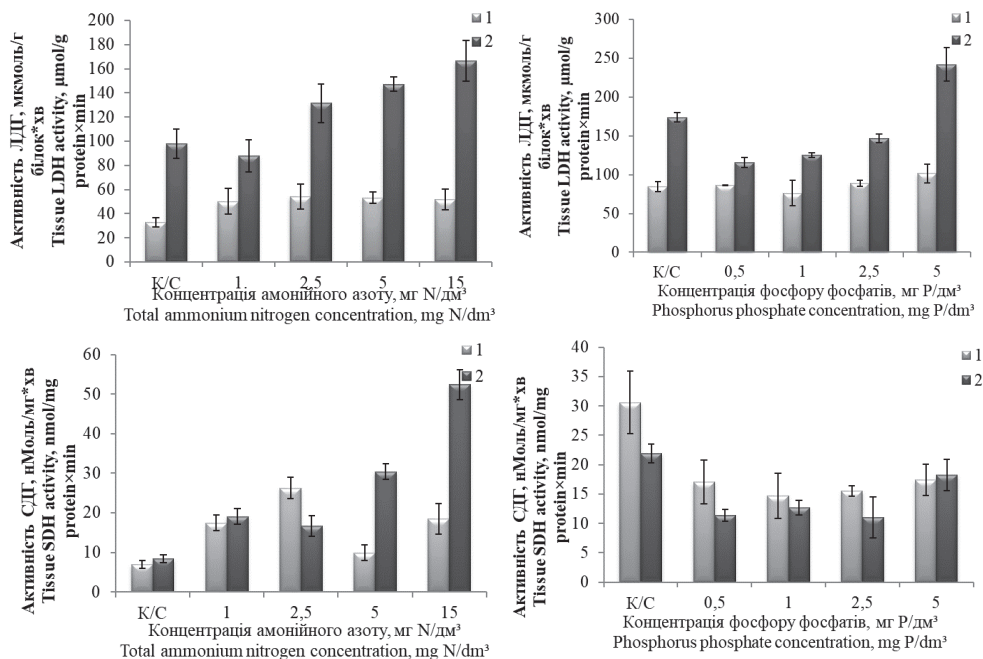


Рис. 1. Активність ЛДГ, СДГ в тканинах краснопірки за дії хлориду амонію та монофосфату калію

Примітка. Тут і надалі : 1 — м'язи; 2 — зябра; К/С — контроль/control.

Fig. 1. The activity of LDH and SDH in tissues of common rudd effected by ammonium chloride and monopotassium phosphate

Note. Hereinafter referred to as: 1 — muscle; 2 — gills; K/C — control/

В досліді було встановлено, що за впливу концентрації 5,0 мг N/дм³ хлориду амонію активність ЛФ в м'язах молоді краснопірки знизилася на 35,7% відносно контролю, при концентрації 15,0 мг N/дм³ — зросла на 36,3%. Це свідчить про активацію процесів дефосфорилювання за посилених енерговитрат. В тканині зябер зростання активності ЛФ безпосередньо залежало від концентрації токсиканта, а її величина знизилася на 6,3–67,5% відносно контролю (рис. 2). Це вказує на зниження інтенсивності процесів дефосфорилювання у зябрових пелюстках за цих умов.

За впливу ортофосфат-йону в м'язах молоді краснопірки зафіксовано зниження активності ЛФ за концентрацій 0,5–5,0 мг P/дм³ на 22,6–74,1% відносно контролю, у зябрах — на 59,6–4,8% порівняно з контролем. Це також свідчить про зниження інтенсивності процесів дефосфорилювання у відповідь на вплив ортофосфатів.

Інший маркерний фермент — глутаматдегідрогеназа (ГДГ) — фермент білкового обміну. Його основною метаболічною роллю є дезамінування глутамату, в результаті чого утворюється α-кетоглутарат і виділяється аміак [36]. Однак, якщо аміак з організму не виведений і існує необхідність зменшення його кількості та/або збільшення кількості енергетичних субстратів, глутаматдегідрогеназа може діяти в оберненому напрямі. Це проявляється у амінуванні α-кетоглутарату до глутамату за присутності NADH.



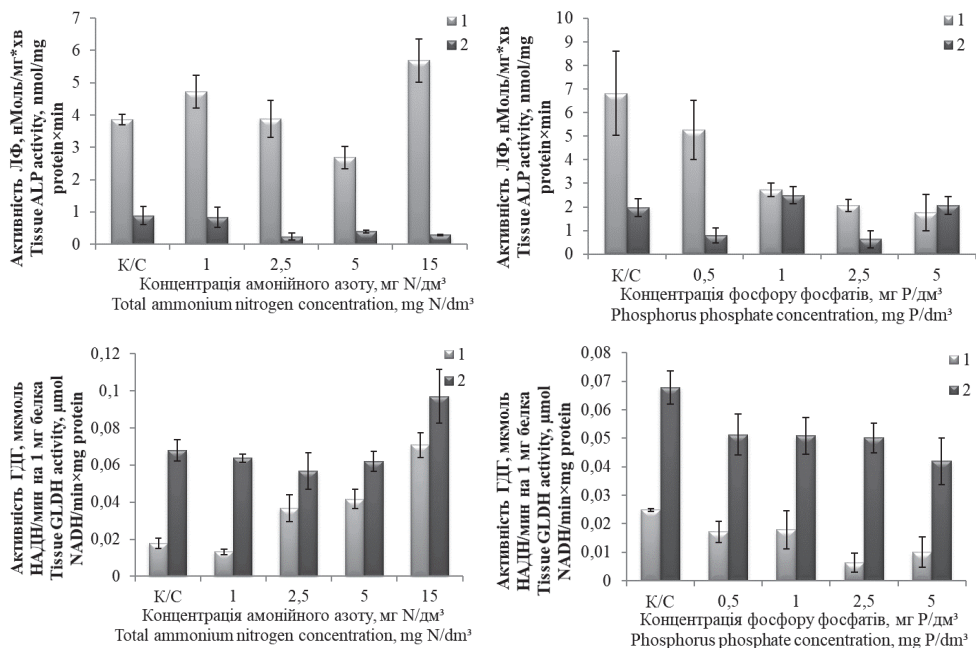


Рис. 2. Активність ЛФ, ГДГ в тканинах краснопірки за дії хлориду амонію та монофосфату калію

Fig. 2. The activity of ALP and GLDH in tissues of common rudd effected by ammonium chloride and monopotassium phosphate

Так, за умов нашого дослідження встановлено, що активність ГДГ в м'язах за вмісту хлориду амонію на рівні 1,0 мг N/дм³ знижувалася на 25,8% відносно контролю. Це свідчить про відсутність негативного впливу на білковий обмін цієї концентрації. За вмісту 2,5–15,0 мг N/дм³ активність ферменту зростала в 2–4 рази. Це пов'язано з тим, що за токсичних умов організму необхідно активне зв'язування надлишкового аміаку для подальшого його виведення з організму. В з'ябрах краснопірки за дії концентрації 15,0 мг N/дм³ активність ГДГ була вищою, ніж контрольні значення, на 42,8%, що пов'язано з безпосередньою участю цього ферменту в процесах детоксикації та екскреції аміаку.

За впливу концентрацій ортофосфат-йону 0,5–5,0 мг P/дм³ в м'язах краснопірки зафіксовано зниження активності ГДГ на 30,6–74,6% порівняно з контролем, а в з'ябрах — на 24,4–38,1%. Це вказує на помірний токсичний вплив ортофосфат-йону та зниження активності процесів білкового обміну.

Основним найбільш доступним джерелом енергії в організмі риб є глікоген, який використовується раніше, ніж ліпіди або білки. Значне зниження його вмісту відбувається за підвищення енергетичних потреб у відповідь на токсичний вплив [37–41]. Глікоген забезпечує енергетичне підтримання фізіологічних реакцій на дію стресорів.

Встановлено, що за концентрації хлориду амонію на рівні 1,0–2,5 та 5,0–15,0 мг N/дм³ вміст глікогену був відповідно у 2,3–3,1 раза та на 18,3–6,0% вищим, ніж контрольні значення. За дії монофосфату калію в концентрації 0,5–



5,0 мг Р/дм³ вміст глікогену в м'язах молоді краснопірки знижувався на 18,6–30,2% відносно контролю. Це, вірогідно, пов'язано з активізацією процесів глюконеогенезу за дії токсичного навантаження на організм піддослідних риб, та узгоджується зі зниженням вмісту білків у тканинах молоді. В м'язах та зябрах достовірних змін глікогену не виявлено (рис. 3).

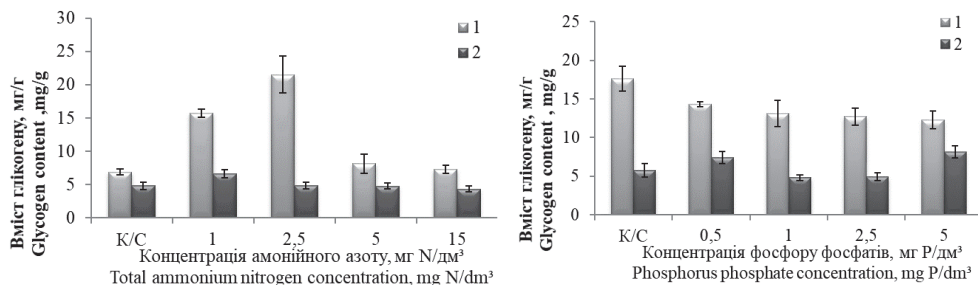


Рис. 3. Вміст глікогену в тканинах краснопірки за дії хлориду амонію та монофосфату калію

Fig. 3. Glycogen content in tissues of common rudd effected by ammonium chloride and monopotassium phosphate

Крім того, для подолання токсичного впливу хлориду амонію чи монофосфату калію залучаються ліпіди. Вони використовуються для поповнення енерговитрат за тривалого впливу токсикантів на організм. Встановлено, що лише за вищих досліджених концентрацій амонію (5,0–15,0 мг N/дм³) вміст ліпідів в м'язах молоді краснопірки знижувався на 12,9 та 26,8% відносно контролю. Ліпіди активно залучалися для енергетичного забезпечення процесів детоксикації та екскреції хлориду амонію з організму. Вміст ліпідів в зябрових пелюстках за концентрацій 2,5–15,0 мг N/дм³ знижувався на 55,6–60,2% відносно контролю. Це пов'язано з посиленими енерговитратами на детоксикацію та екскрецію хлориду амонію зябрами, а, можливо, зі зменшенням вмісту фосфоліпідів у мембранах через пошкодження токсикантом.

За впливу підвищених концентрацій ортофосфат-йону лише при 5,0 мг Р/дм³ вміст ліпідів у м'язах знижувався на 13,6% відносно контролю. В зябрах за концентрації 0,5–2,5 мг Р/дм³ вміст ліпідів достовірно не змінювався, а при 5,0 мг Р/дм³ зріс на 35,7% (рис. 4). Це може бути пов'язаним із ущільненням клітинних мембран для зменшення проникності ортофосфат-йону в організм краснопірки.

За тривалої дії токсикантів на організм можливе істотне використання білків для енергетичного забезпечення процесів протидії їхньому впливу. Відомо, що за дії отруйних речовин вміст білків і ліпідів в м'язах та печінці риб знижується, за рахунок використання їх в процесах глюконеогенезу [42, 43].

За впливу хлориду амонію в м'язах молоді краснопірки зафіксовано деяке зниження вмісту білка на 16,0–20,5% за концентрації амонію на рівні 1,0–15,0 мг N/дм³. За дії ортофосфат-йону в м'язах за концентрації 0,5–1,0 мг Р/дм³ також достовірно зменшувався вміст білка на 7,4 та 12,8%. В зябрах достовірних змін вмісту білка не було відмічено ні за дії підвищених концентрацій амонію, ні ортофосфатів.



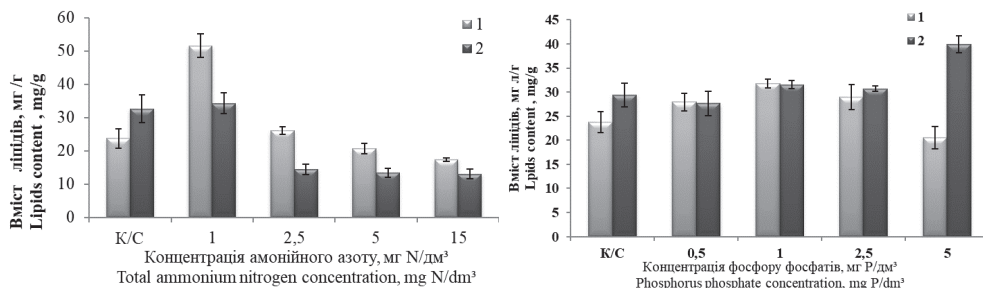


Рис. 4. Вміст загальних ліпідів в тканинах краснопірки за дії хлориду амонію та монофосфату калію

Fig. 4. Total lipids content in tissues of common rudd effected by ammonium chloride and monopotassium phosphate

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

За результатами хронічних токсикологічних досліджень встановлені особливості біохімічних механізмів адаптації молоді краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* L.). Встановлено, що під впливом підвищених концентрацій йонів амонію посилюється активність ферментів енергетичного обміну. При цьому активність аеробних процесів (СДГ) підвищується істотно більше — до 3,8 раза вище, порівняно з контролем; активність анаеробних процесів значно менше — до 70,4%. За впливу ортофосфат-йону активність СДГ у м'язах та зябрах молоді краснопірки переважно знижувалася, а така ЛДГ у зябрах підвищувалася лише на 19,8%, порівняно з контролем, за 5,0 мг Р/дм³.

Отримані результати вказують на те, що активність процесів дефосфорилювання (ЛФ) у м'язах та зябрах краснопірки за дії йонів амонію знижувалася за концентрації 1,0–5,0 мг N/дм³, а за 15,0 г N/дм³ у м'язах — дещо зростала — до 36,3% порівняно з контролем. Монофосфат калію викликав також зменшення активності ЛФ та процесів дефосфорилювання.

Активність глутаматдегідрогенази (білковий обмін) у тканинах молоді краснопірки за дії підвищеної концентрації хлориду амонію (понад 2,5 мг N/дм³) істотно зростала — до 4,0 разів відносно контролю. Це пов'язано з процесами детоксикації надлишкового аміаку та його екскреції з організму. Цей фермент не був задіяний в процесах пристосування риб до підвищеної концентрації монофосфату калію, його активність в тканинах знижувалася.

Що стосується вмісту енергетичних субстратів у тканинах риб, вміст глікогену у м'язах за дії хлориду амонію зростав. Це, очевидно, пов'язано з активацією процесів глюконеогенезу переважно за рахунок білків, вміст яких знижувався. Проте, підвищені концентрації монофосфату калію викликали активне використання глікогену на забезпечення енергетичних потреб організму, його вміст знижувався до 30,2% порівняно з контролем. Ліпіди використовувалися для підтримання гомеостазу організму лише за значних концентрацій йонів амонію та фосфатів — понад 5,0 мг N/дм³ та 5,0 мг Р/дм³.

Таким чином, досліджені показники можна використовувати для оцінки фізіологічного стану молоді краснопірки та якості водного середовища.



ЛІТЕРАТУРА

1. Гідроекологічний стан басейну річки Рось / Хільчевський В. К. та ін. Київ : Ніка-Центр, 2009. 115 с.
2. Булатова А. А., Антропова Н. К. Антропогенное воздействие на окружающую среду и здоровье человека // Новое слово в науке: перспективы развития : VI Междунар. науч.-практ. конф., Чебоксары, 20 нояб. 2015 г. : матер. Чебоксары : ЦНС «Интерактив плюс», 2015. С. 236—237.
3. Randall D. J., Tsui T. K. N. Ammonia toxicity in fish // Marine pollution bulletin. 2002. Vol. 45 (1–12). P. 17—23.
4. Lotter A. F., Anderson N. J. Limnological responses to environmental changes at inter-annual to decadal time-scales // Tracking environmental change using lake sediments. Dordrecht : Springer, 2012. P. 557—578.
5. Camargo J. A., Alonso A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment // Environ. Int. 2006. Vol. 32 (6). P. 831—849.
6. Ammonia in aquatic systems / Francis-Floyd R. et al. // University of Florida IFAS Extension Publication., 2009. URL: www.researchgate.net/profile/Denise_Petty/publication/241040412_Ammonia_in_Aquatic_Systems1/links/00463536768b96d21b000000.pdf (accessed: 22.12.2019).
7. Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria For Ammonia — Freshwater. Washington, DC : U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Office of Science and Technology, 2013. URL : <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/aquatic-life-ambient-water-quality-criteria-for-ammonia-freshwater-2013.pdf> (accessed : 22.12.2019).
8. Randall D. J., Wright P. A. Ammonia distribution and excretion in fish // Fish Physiology and Biochemistry. 1987. Vol. 3 (3). P. 107—120.
9. Smart G. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Journal of Fish Biology. 1976. Vol. 8 (6). P. 471—475.
10. Levit S. M. A literature review of effects of ammonia on fish // Center for Science in Public Participation Bozeman, Montana. — 2010. URL : <https://www.conservationgateway.org/ConservationByGeography/NorthAmerica/UnitedStates/alaska/sw/cpa/Documents/L2010ALR122010.pdf>. (accessed : 22.12.2019).
11. Sub-lethal concentrations of ammonia impair performance of the teleost fast-start escape response / McKenzie D. J. et al. // Physiological and Biochemical Zoology. 2008. Vol. 82 (4). P. 353—362.
12. Report on ammonia and inland fisheries. European Inland Fisheries Advisory Commission. Working party on water quality criteria for European freshwater fish. Rome : FAO of the UN/EIFAC, 1970. 12 p.
13. Abdalla A., El-Shebly H. A., Gad M. J. Effect of chronic ammonia exposure on growth performance, serum growth hormone (GH) levels and gill histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Microbiol. Biotech. Res. 2011. Vol. 1 (4). P. 183—197.
14. Boudreaux P. J., Ferrara A. M., Fontenot Q. C. Acute toxicity of ammonia to spotted gar, *Lepisosteus oculatus*, alligator gar, *Atractosteus spatula*, and paddlefish, *Polyodon spathula* // Journal of the World Aquaculture Society. 2007. Vol. 38 (2). P. 322—325.



15. Tilak K. S., Lakshmi S. J., Susan T. A. The toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to the fish, *Catla catla* (Hamilton) // Journal of environmental biology. 2002. Vol. 23 (2). P. 147—149.
16. Naidu G. N., Kumar P. P. N. V., Shameem U. Acute and sub-acute toxic effect of ammonia on behavioral and haematological responses of Indian major carp *Labeo rohita* Ham., 1822 // International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. 2017. Vol. 5 (2). P. 332—335.
17. Colt J., Tchobanoglous G. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus* // Aquaculture. 1976. Vol. 8 (3). P. 209—224.
18. Nutrients: Phosphorus, Nitrogen Sources, Impact on Water Quality — A General Overview. URL : <https://www.pca.state.mn.us/sites/default/files/wq-iw3-22.pdf> (accessed : 22.12.2019)
19. Ecological response to hurricane events in the Pamlico Sound system, North Carolina, and implications for assessment and management in a regime of increased frequency / Paerl H. W. et al. // Estuaries and Coasts. 2006. Vol. 29 (6). P. 1033—1045.
20. Ulén B. M., Weyhenmeyer G. A. Adapting regional eutrophication targets for surface waters—influence of the EU Water Framework Directive, national policy and climate change // Environmental Science & Policy. 2007. Vol. 10 (7–8). P. 734—742.
21. A review of the potential impacts of climate change on surface water quality / Whitehead P. G. et al. // Hydrological Sciences Journal. 2009. Vol. 54 (1). P. 101—123.
22. Chukwu L. O., Okpe H. A. Differential response of *Tilapia guineensis* fingerlings to inorganic fertilizer under various salinity regimes // Journal of environmental biology. 2006. Vol. 27 (4). P. 687—690.
23. Molecular diversity of denitrifying genes in continental margin sediments within the oxygen-deficient zone off the Pacific coast of Mexico / Liu X. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2003. Vol. 69 (6). P. 3549—3560.
24. The effect of high ortho-phosphate water levels on growth, feed intake, nutrient utilization and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*) reared in intensive recirculating aquaculture systems (RAS) / Van Bussel C. G. J. et al. // Aquacultural engineering. 2013. Vol. 57. P. 63—70.
25. Effects of Ortho-Phosphate on Growth Performance, Welfare and Product Quality of Juvenile African Catfish (*Clarias gariepinus*) / Strauch S. M. et al. // Fishes. 2019. Vol. 4 (1). P. 1—17.
26. Aquatic Toxicity Assessment of Phosphate Compounds / Kim E. et al. // Environmental Health and Toxicology. 2013. Vol. 28. P. 2—8.
27. СОУ — 05.01.-37-385:2006. Вода рибогосподарських підприємств. Загальні вимоги та норми. Київ : Міністерство аграрної політики України, 2006. 15 с. (Стандарт Мінагрополітики України).
28. Ещенко Н. Д., Вольский Г. Г. Определение активности сукцинатдегидрогеназы // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) Ленинград : Ленингр. ун.-т, 1982. С. 210—212.
29. Способ определения активности глутаматдегидрогеназы в биологических объектах : пат. № 1573419, SU 1573419 Al. 1990 / 1-й Московский Медицинский Институт им. И. М. Сеченова. URL : <http://patents.su/2-1573419-sposob-opredeleniya-aktivnosti-glutamatdegidrogenazy-v-biologicheskikh-obektakh.html> (дата обращения : 22.12.2019).



30. Protein measurement with the folin phenol reagent / Lowry O. H. et al. // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, № 1. P. 265—275.
31. Шапиро Д. К. Практикум по биологической химии // ред. Вечер А. С. Минск : Вышэйшая школа, 1976. 288 с.
32. Причепа М. В. Особливості адаптації аборигенних окуневих риб до дії екологічних чинників водного середовища : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : 03.00.10 «Іхтіологія». Київ, 2016. 24 с.
33. Zutshi B., Noor N., Sreekala G. Assessment of protein assessment of protein, glycogen and activity of phosphatases of *Labeo rohita* in response to physico-chemical parameters of lakes of Bangalore // THE BIOSCAN. 2015. Vol. 10, № 4. P. 1531—1537.
34. Activity levels of phosphatases of the air-breathing catfish *Mystus cavasius* exposed to electroplating industrial effluent chromium / Palanisamy P. et al. // Biology and Medicine. 2012. Vol. 4, № 2. P. 60—64.
35. Activity of Enzymes of Blood Plasma of Carp (*Cyprinus carpio*) under Albendazole Impact / Kurbatova I. M. et al. // Hydrobiological Journal. 2018. Vol. 54, № 4. P. 72—77.
36. Нельсон Д. Л., Кокс М. М., Ленинджер А. Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. Т. 2. Биоэнергетика и метаболизм : 3-е изд. Москва : Лаборатория знаний, 2017. С. 588—589.
37. Fatma A. S., Gad M. N. S. Environmental pollution-induced biochemical changes in tissues of *Tilapia zillii*, *Solea vulgaris* and *Mugil carpito* from lake Qarun, Egypt // Global Veterenaria. 2008. Vol. 2 (6). P. 327—336.
38. Cıcık B., Engin K. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) // Turk J. vet. 2005. Vol. 29. P. 113—117.
39. Changes in carbohydrate metabolism in the eel *Anguilla anguilla* during short-term exposure to diazinon / Ceron J. J. et al. // Toxicol. Environ. Chem. 1997. Vol. 60. P. 201—210.
40. Jyothi B., Narayan G. Effect of phorate on certain protein profiles of serum in freshwater fish, *Clarias batrachus* // J. Environ. Biol. 1997. Vol. 18. P. 137—140.
41. Neff H. M. Use of biochemical measurement to detect pollutant-mediated damage to fish. ASTM // Spec tech. publ. 1985. Vol. 854. P. 155—183.
42. Bhattacharya H., Lun L., Gomez R. G. D. Biochemical effects to toxicity of CCl₄ on rosy barbs (*Puntius conchoniis*) // J. Our Nat. 2005. Vol. 3. P. 10—25.
43. Adamu K. M., Kori-Siakpere O. Effects of sub-lethal concentrations of tobacco (*Nicotiana tobaccum*) leaf dust on some biochemical parameters of hybrid catfish (*Clarias gariepinus* and *Heterobranchus bidorsalis*) // Brazilian Archives of Biology and Technology. 2011. Vol. 54, № 1, P. 183—196.

REFERENCES

1. Khilchevskiy, V. K., Kurylo, S. M., Dubniak, S. S., Savytskyi, V. M., & Zabokrytska, M. R. (2009). *Hidroekolohichni stan baseinu richky Ros: monohrafiia*. Kyiv: Nika-Tsentr.
2. Bulatova, A. A., & Antropova, N. K. (2015). Antropohennoe vozdeistviye na okruzhaiushchuiu sredu y zdorove cheloveka. *Novoe slovo v nauke: perspektyvy razvytyia*, 4, 236-237.



3. Randall, D. J., & Tsui, T. K. N. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine pollution bulletin*, 45 (1-12), 17-23.
4. Lotter, A. F., & Anderson, N. J. (2012). Limnological responses to environmental changes at inter-annual to decadal time-scales. *Tracking environmental change using lake sediments*. Dordrecht: Springer, 557-578.
5. Camargo, J. A., & Alonso, Á. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment International*, 32 (6), 831-849.
6. Francis-Floyd, R., Watson, C., Petty, D., & Pouder, D. B. (2009). Ammonia in aquatic systems. *University of Florida IFAS Extension Publication# FA-16*.
7. US Environmental Protection Agency. (2013). *Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria for Ammonia-Freshwater*.
8. Randall, D. J., & Wright, P. A. (1987). Ammonia distribution and excretion in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 3 (3), 107-120.
9. Smart, G. (1976). The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fish Biology*, 8 (6), 471-475.
10. Levit, S. M. (2010). A literature review of effects of ammonia on fish. Center for Science in Public Participation Bozeman, Montana. conservationgateway.org. Retrieved from: <https://www.conservationgateway.org/ConservationByGeography/NorthAmerica/UnitedStates/alaska/sw/cpa/Documents/L2010ALR122010.pdf>.
11. McKenzie, D. J., Shingles, A., Claireaux, G., & Domenici, P. (2008). Sublethal concentrations of ammonia impair performance of the teleost fast-start escape response. *Physiological and Biochemical Zoology*, 82(4), 353-362.
12. European Inland Fisheries Advisory Commission. (1970). Water Quality Criteria for European Freshwater Fish. *Report on ammonia and in land fisheries. EIFAC Tech. Paper, 1, 1*.
13. El-Shebly, A. A., & Gad, H. A. M. (2011). Effect of chronic ammonia exposure on growth performance, serum growth hormone (GH) levels and gill histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Microbiol Biotechnol Res*, 1(4), 183-197.
14. Boudreaux, P. J., Ferrara, A. M., & Fontenot, Q. C. (2007). Acute toxicity of ammonia to spotted gar, *Lepisosteus oculatus*, alligator gar, *Atractosteus spatula*, and paddlefish, *Polyodon spathula*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(2), 322-325.
15. Tilak, K. S., Lakshmi, S. J., & Susan, T. A. (2002). The toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to the fish, *Catla catla* (Hamilton). *Journal of environmental biology*, 23(2), 147-149.
16. Kumar, P. V., Naidu, G. N., Satyanarayana, B., & Shameem, U. (2017). Effect of Ammonia Toxicity on the biochemical and enzymatic activity of Indian major carp *Labeo rohita* (Ham, 1822). *Journal of environmental biology*, 23 (2), 147-149.
17. Colt, J., & Tchobanoglous, G. (1976). Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 8(3), 209-224.
18. *Nutrients: Phosphorus, Nitrogen Sources, Impact on Water Quality — A General Overview* (2008). Minnesota Pollution Control Agency.
19. Paerl, H. W., Valdes, L. M., Joyner, A. R., Peierls, B. L., Piehler, M. F., Riggs, S. R., & Clesceri, E. J. (2006). Ecological response to hurricane events in the Pamlico Sound system, North Carolina, and implications for assessment and management in a regime of increased frequency. *Estuaries and Coasts*, 29(6), 1033-1045.



20. Ulén, B. M., & Weyhenmeyer, G. A. (2007). Adapting regional eutrophication targets for surface waters — influence of the EU Water Framework Directive, national policy and climate change. *Environmental Science & Policy*, 10(7-8), 734-742.
21. Whitehead, P. G., Wilby, R. L., Battarbee, R. W., Kernan, M., & Wade, A. J. (2009). A review of the potential impacts of climate change on surface water quality. *Hydrological sciences journal*, 54(1), 101-123.
22. Chukwu, L. O., & Okpe, H. A. (2006). Differential response of *Tilapia guineensis* fingerlings to inorganic fertilizer under various salinity regimes. *Journal of environmental biology*, 27(4), 687-690.
23. Liu, X., Tiquia, S. M., Holguin, G., Wu, L., Nold, S. C., Devol, A. H., & Zhou, J., et al. (2003). Molecular diversity of denitrifying genes in continental margin sediments within the oxygen-deficient zone off the Pacific coast of Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(6), 3549-3560.
24. van Bussel, C. G., Mahlmann, L., Kroeckel, S., Schroeder, J. P., & Schulz, C. (2013). The effect of high ortho-phosphate water levels on growth, feed intake, nutrient utilization and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*) reared in intensive recirculating aquaculture systems (RAS). *Aquacultural engineering*, 57, 63-70.
25. Strauch, S. M., Bahr, J., Baßmann, B., Bischoff, A. A., Oster, M., Wasenitz, B., & Palm, H. W. (2019). Effects of Ortho-Phosphate on Growth Performance, Welfare and Product Quality of Juvenile African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Fishes*, 4(1), 3.
26. Kim, E., Yoo, S., Ro, H. Y., Han, H. J., Baek, Y. W., Eom, I. C., & Choi, K., et al. (2013). Aquatic toxicity assessment of phosphate compounds. *Environmental health and toxicology*, 28.
27. Voda rybohospodarskykh pidpryiemstv. Zahalni vymohy ta normy. (2006). *SOU-05.01.-37-385:2006. Standart minahropolityky Ukrainy*. Kyiv: Ministerstvo ahrarynoi polityky Ukrainy.
28. Eshchenko, N. D., & Volskyi, H. H. (1982). *Opreddenye aktivnosti suksynatdehydrogenazy*. Metody byokhymycheskykh yssledovanyi (lypydniy y enerhetycheskyi obmen). Prokhorovoi M. Y. (Ed.). Leningrad: Lenynhr. un-t, 210-212.
29. Khokhlov, A. P., Sydorova, N. V., & Alyeva, Kh. K. (1990). Sposob opredeleniya aktivnosti glutamatdehydrogenazy v byolohycheskykh obektakh. Avtorskoe yzobretenye SU 1573419 Al. № 1573419. *patents.su*. Retrieved from <http://patents.su/2-1573419-sposob-opredeleniya-aktivnosti-glutamatdehidrogenazy-v-biologicheskikh-obektakh.html>.
30. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193, 265-275.
31. Shapyro, D. K. (1976). *Praktykum po byolohycheskoi khymyy*. Mynsk: Vyshaia shkola, 169-170.
32. Prychepa, M. V. (2016). Osoblyvosti adaptatsii aboryhennykh okunevykh ryb do dii ekolohichnykh chynnykiv vodnoho seredovyshcha. *Extended abstract of candidate's thesis*. Kyiv: In-t hidrobiolohii.
33. Zutshi, B., Noor, N., & Sreekala, G. (2015). Assessment of protein, glycogen and activity of ctivity of phosphatases of *Labeo rohita* in response to physico-chemical parameters of lakes of Bangalore Assessment. *THE BIOSCAN*, 10(4), 1531-1537.



34. Palanisamy, P., Sasikala, G., Mallikaraj, D., Bhuvaneshwari, N., & Natarajan, G. M. (2012). Activity levels of phosphatases of the air-breathing catfish *Mystus cavasius* exposed to electroplating industrial effluent chromium. *Biology and Medicine*, 4(2), 60-64.
35. Kurbatova, I. M., Yevtushenko, M. Y., Zakharenko, M. O., & Chepil, L. V. (2018). Activity of Enzymes of Blood Plasma of Carp (*Cyprinus carpio*) under Albendazole Impact. *Hydrobiological Journal*, 54(4), 72-77.
36. Nelson, D. L., Koks, M. M., & Lenyndzher, A. (2017). *Osnovy byokhymyy Lenyndzhera*, 588-589.
37. Mohamed, F. A. S., & Gad, N. S. (2008). Environmental pollution-induced biochemical changes in tissues of *Tilapia zillii*, *Solea vulgaris* and *Mugil capito* from Lake Qarun, Egypt. *Global Vet*, 2(6), 327-336.
38. Cicik, B., & Engin, K. (2005). The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(1), 113-117.
39. Ceron, J. J., Sancho, E., Ferrando, M. D., Gutierrez, C., & Andreu, E. (1997). Changes in carbohydrate metabolism in the eel *anguilla anguilla*, during short-term exposure to diazinon. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 60(1-4), 201-210.
40. Jyothi, B., & Narayan, G. (1997). Effect of phorate on certain protein profiles of serum in freshwater fish, *Clarias batrachus* (Linn.). *Journal of Environmental Biology*, 18(2), 137-140.
41. Neff, J. M. (1985). Use of biochemical measurements to detect pollutant-mediated damage to fish. *Aquatic toxicology and hazard assessment: seventh symposium. ASTM International*, 155-183.
42. Bhattacharya, H., & Lun, L. (2005). Biochemical effects to toxicity of CCl₄ on rosy barbs (*Puntius conchoni*). *Our Nature*, 3(1), 20-25.
43. Adamu, K. M., & Kori-Siakpere, O. (2011). Effects of sublethal concentrations of tobacco (*Nicotiana tobaccum*) leaf dust on some biochemical parameters of Hybrid catfish (*Clarias gariepinus* and *Heterobranchus bidorsalis*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(1), 183-196.

