

УДК:[597.2/5:504.05](285.3)

*М. В. Причепя, О. С. Потрохов, О. Г. Зіньковський*

### **ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНИХ РЕАКЦІЙ РИБ НА АНТРОПОГЕННИЙ ВПЛИВ ЗА УМОВ УРБАНІЗАЦІЇ**

Розглянуто особливості адаптивних реакцій різних видів риб на вплив антропогенного навантаження. За несприятливих умов існування у більшості видів риб зростає активність лактатдегідрогенази та інгібується активність сукцинатдегідрогенази у зябрах і м'язах. Встановлено, що за низкою біохімічних показників верховодка є найбільш екологічно пластичним видом. Отримані результати можна використовувати для проведення біомоніторингу водойм і виявлення екологічно вразливих або стійких видів.

**Ключові слова:** *риби, антропогенні чинники, активність ферментів, метаболізм, енергетичні сполуки, адаптивна реакція, екологічна пластичність.*

Урбанізація територій — одна з найбільш комплексних форм антропогенного впливу на природні об'єкти, зокрема водні [25], що неминуче призводить до порушення екологічної рівноваги і може виступати в ролі руйнівного чинника для біоти [4, 6, 18]. Його дія на організм гідробіонтів може бути як безпосередньою, так і опосередкованою. Відомо, що організми, які існують за нестабільних екологічних умов, здатні формувати власні компенсаторні системи захисту, що забезпечують їх виживання та відтворення [5, 8, 14]. Завдяки різній екологічній пластичності та здатності до поліморфізму у межах окремого виду формуються резистентні популяції, що дозволяє розширювати межі ареалів. Деякі види звужують межі розповсюдження, що відображається на їх чисельності [1, 6]. Процеси пристосування відбуваються насамперед за рахунок біохімічної адаптації, яка визначає межі екологічної валентності виду [5]. Незважаючи на значну кількість робіт щодо вивчення окремих ланок адаптації риб до антропогенного навантаження, механізм їх формування під впливом більшості екологічних чинників залишається відкритим [10, 25]. Окрім того, останнім часом особливу зацікавленість у вчених викликає інтегральна відповідь організму риб на зміни не лише окремо взятого екологічного чинника, а й ситуації у водоймі у цілому [10]. Здатність долати стрес та швидко поновлювати енергетичний баланс є ключовою у формуванні стійких популяцій та екологічно пластичних видів риб. Коли дія чинника виходить за межі компенсаторних можливостей, виникають порушення, які проявляються у зміні структурно-функціональних показників низки

© М. В. Причепя, О. С. Потрохов, О. Г. Зіньковський, 2019

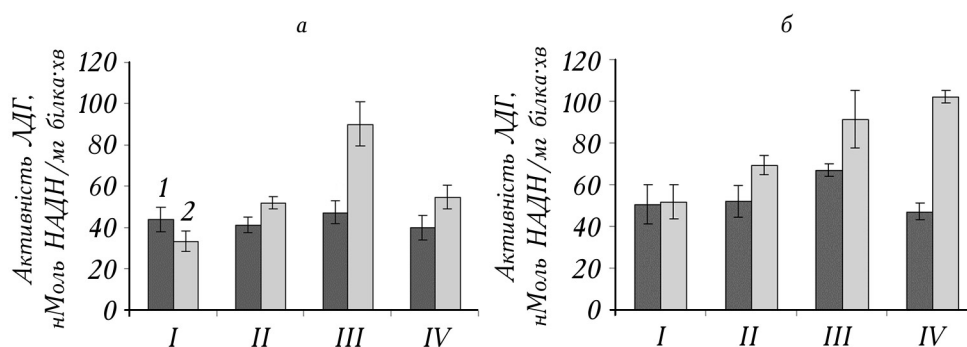
органів і тканин, насамперед активності ферментативних систем і вмісту енергоємних сполук [4, 7]. Розуміння цієї проблеми — важливий крок до розширення нашої уяви стосовно екологічної валентності різних видів гідробіонтів, у тому числі й риб.

Метою роботи було дослідити міжвидові відмінності біохімічних реакцій риб на вплив антропогенного навантаження в умовах урбоекосистеми.

**Матеріал і методика досліджень.** Досліджено дві водойми, які суттєво відрізняються за екологічними умовами. Оз. Кирилівське (оз. Опечень верхне) розташоване у межах м. Києва та підлягає періодичному і сезонному забрудненню з боку промислових зон та забудови, зокрема нафтопродуктами, фенолами, важкими металами і пестицидами [9, 12]. Іншою небезпекою для біоти у цій водоймі є замуленість дна, яка сприяє накопиченню токсичних сполук і вторинному забрудненню [2, 9]. Одним із показників нестабільного екологічного стану водойми є коливання рівня загальної мінералізації внаслідок надходження з прилеглих територій хлоридів, сульфатів, карбонатів, тощо [12]. Другою водоймою було мале Середнє Білоцерківське водосховище на р. Рось, розташоване вище м. Білої Церкви, яке фактично не зазнає впливу антропогенного навантаження, що підтверджується результатами досліджень токсикологічної і екологічної ситуації [16]. Вміст кисню в оз. Кирилівському під час досліджень становив 1,3—5,0 мг/дм<sup>3</sup>, у Середньому Білоцерківському водосховищі 6—8,5 мг/дм<sup>3</sup>, температура води — відповідно 17,5—24,5°C і 14,0—19,6°C, рН — 7,8—8,2 і 7,3—7,7, загальна мінералізація — 450—490 і 530—580 мг/дм<sup>3</sup>.

Було обрано різні за спектром живлення і розподілом у водоймі види: придонно-пелагічний хижак — окунь *Perca fluviatilis* (L.), придонний бентофаг — йорж *Gymnocephalus cernua* (L.), пелагічний еврифаг — краснопірка *Scardinius erythrophthalmus* (L.) і пелагічний зоопланктофаг — верховодка *Alburnus alburnus* (L.).

Відлов риб проводили у вересні і жовтні за допомогою гачкових знарядь. Було відібрано тканини печінки, зябрових пелюсток і м'язів, які зберігались при температурі -18°C. У лабораторних умовах активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ) і лужної фосфатази (ЛФ) визначали з використанням стандартних комерційних наборів «ГГТ» і «Лужна фосфатаза» («Філісіт Діагностика», Україна). Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) визначали спектрофотометрично за методикою [3], сукцинатдегідрогенази (СДГ) — фериціанідним методом [3], рівень перекисного окиснення ліпідів — за стандартною методикою [15]. Вміст загальних ліпідів встановлювали за допомогою стандартного комерційного набору «Загальні ліпіди» («Філісіт Діагностика»), вміст глікогену — антроновим методом [13]. Активність ферментів розраховували на 1 мг білка, вміст якого встановлювали за методом Лоурі [20]. Статистичну обробку даних проводили з використанням програми Statistica 5.5. При виконанні досліджень дотримувалися всіх норм біоетики.



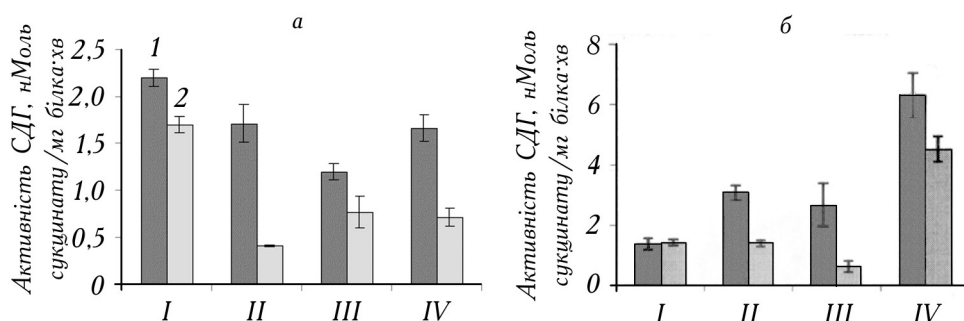
1. Активність лДГ у м'язах (а) і зябрових пелюстках (б) риб з Середнього Білоцерківського водосховища (1) і оз. Кирилівського (2). Тут і на рис. 2: I — верховодка; II — окунь; III — йорж; IV — краснопірка.  $M \pm m, n = 6$ .

### Результати досліджень та їх обговорення

Для дослідження спрямованості енергетичного обміну нами було обрано ферменти вуглеводневого обміну. Лактатдегідрогеназа є важливим гліколітичним ферментом у біологічних системах і індукується кисневим стресом [23, 25]. Вона присутня у більшості тваринних тканин і бере участь у перетворенні молочної кислоти в піровиноградну [17, 26]. У зябрових пелюстках окуня, йоржа і краснопірки із оз. Кирилівського активність лДГ була відповідно в 1,4, 1,5 і 2,1 разу вищою, ніж у особин із водосховища (рис. 1).

У м'язах окуня, йоржа і краснопірки відмічено аналогічну картину, що вказує на зростання використання гліколізу у процесах адаптації до дії екологічних чинників водойми. Значне зростання активності цього ферменту відбувається у згаданих видів, які потребують чіткого корегування гліколітичних процесів, зокрема за несприятливих екологічних умов, з якими час від часу зіштовхується їх організм у оз. Кирилівському. У той же час у верховодки відмінностей активності лДГ цим показником між різними вибірками не встановлено, що може свідчити про її більшу стійкість. Це, зокрема, проявляється у відсутності потреби залучення гліколізу в адаптивні реакції до токсикологічної ситуації у водоймі і погіршення її кисневого режиму.

Сукцинатдегідрогеназа — ще один важливий фермент вуглеводневого обміну. Вона безпосередньо бере участь у циклі трикарбонових кислот (ЦТК), забезпечує окиснювальні процеси у тканинах і органах тварин. Відомо, що її активність залежить від дії токсикантів на організм, зокрема важких металів [26]. Вважається [18, 26], що СДГ є репрезентативним метаболічним ферментом для встановлення активності ЦТК у тканинах. Показано, що її активність зменшується зі зниженням концентрації розчиненого у воді кисню. Особливо значні відмінності цього показника встановлено у йоржа і окуня, де активність фермента у зябрових пелюстках особин з оз. Кирилівського була відповідно у 4,2 і 2,2 разу нижчою, ніж у водосховищі. У зябрових пелюстках краснопірки різниця активності СДГ була меншою (1,3



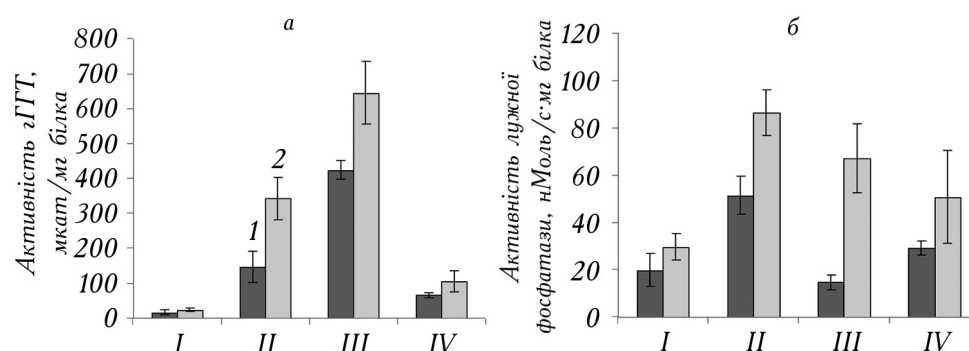
2. Активність АДГ у м'язах (а) і зябрових пелюстках (б) риб із різних водойм.

разу), що вказує на менше використання енергії аеробного обміну для забезпечення гомеостазу за дії токсичного навантаження.

У м'язах верховодки, окуня, йоржа і краснопірки з оз. Кирилівського активність АДГ була відповідно в 1,6, 4,1, 1,5 і 2,3 рази нижчою, ніж у особин з водосховища. Це вказує на інгібування аеробних окисно-відновних процесів за незадовільних кисневих умов, викликаних евтрофікацією та надходженням значної кількості органічних речовин до озера з прилеглої території. Таким чином, існування риб у напружених умовах призводить до інгібування активності АДГ і залучення гліколізу як одного з альтернативних шляхів регулювання енергетичного гомеостазу організму. Зниження активності АДГ і активація ЛДГ за токсичного навантаження вважається своєрідним переходом зі стану аеробіозу до анаеробіозу, що є прикладом фізіологічної і біохімічної адаптації водних тварин [18].

Також було проаналізовано відмінності в активності двох маркерних ферментів функціонального стану печінки [22]. Активність ЛФ та ГГТ рекомендовано використовувати для проведення фізіолого-біохімічного маркування [6, 22, 25]. Встановлено, що у риб в оз. Кирилівському, зокрема, придонного комплексу (йорж, окунь) незалежно від типу живлення активність ЛФ була відповідно в 1,7 і 4,5 рази вищою, ніж у водосховищі (рис. 4). У вибірках краснопірки і верховодки відмінності активності ЛФ у печінці були несуттєвими ( $p \geq 0,05$ ). Це може вказувати на міжвидові відмінності реакцій і суттєвий вплив токсичних донних відкладів на йоржа і окуня. У той же час пелагічні верховодка і краснопірка зазвичай зосереджені у товщі води, тому у них ЛФ була меншою мірою задіяна в адаптивних процесах. У окуня і йоржа внаслідок розвитку ендogenous стресу за несприятливих умов активуються компенсаторно-захисні механізми, зокрема процеси фосфорилування.

Активність маркерного ферменту ГГТ у печінці окуня і йоржа з оз. Кирилівського також була відповідно у 2,3 і 1,6 рази вищою, ніж у особин з водосховища (див рис. 3, а). Це може вказувати на ураження печінки токсичними сполуками на молекулярно-клітинному рівні і несприятливі для фізіологічного стану риб процеси. У краснопірки та верховодки суттєвої

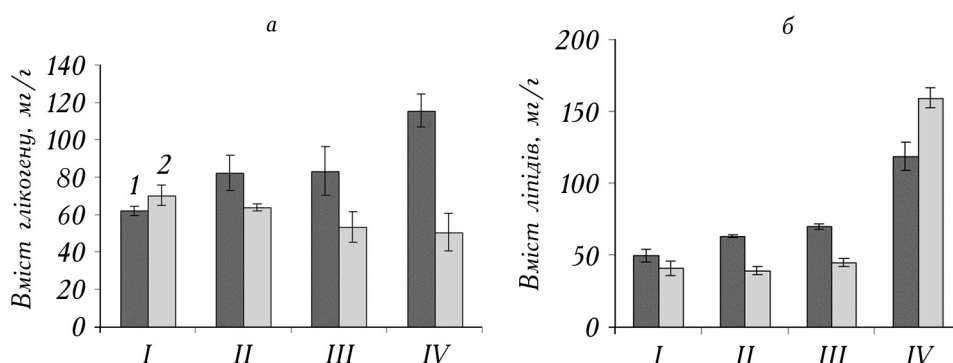


3. Активність ГГТ (а) і ЛФ (б) у печінці різних видів риб.

різниці в активності цього ферменту не виявлено, завдяки тому, що вони займають інші екологічні ніші. Крім того, краснопірка і верховодка мають більш високий рівень опірності до несприятливих екологічних умов існування порівняно з окунем і йоржем. Верховодка постійно змінює місцеперебування у водоймі, що дозволяє їй маневрувати між локальними зонами забруднення. Яскравим прикладом є те, що зграї цих риб часто скупчуються у місцях скидів стічних вод, зокрема у районі впадіння р. Сирець [11].

Зміна активності ферментативних систем, зокрема вуглеводного обміну, сприяла залученню енергоресурсів у адаптивні процеси. Відомо, що в умовах гіпоксії і за дії токсикантів риби отримують енергію шляхом анаеробного катаболізму вуглеводів, зокрема глікогену, який у процесі глікогенолізу перетворюється на глюкозу [14, 21, 23], що у подальшому забезпечує вчасне надходження енергії до уражених тканин. Додаткова енергія дозволяє водним тваринам забезпечувати тканинний гомеостаз та долати стресові явища, викликані несприятливими чинниками [21]. Нижчий вміст глікогену у печінці риб з оз. Кирилівського порівняно з особинами з водосховища може вказувати на вплив забруднюючих речовин на організм, зокрема на його інтенсивне використання у процесах детоксикації. Запаси глікогену у печінці риб використовуються як «аварійне джерело енергії». У свою чергу, зміни вмісту глікогену у печінці за несприятливих умов можуть вказувати на незадовільний фізіологічний стан організму. Встановлено, що у йоржа, окуня і краснопірки з оз. Кирилівського вміст глікогену у печінці був відповідно в 1,8, 1,3 і 2,3 разу нижчим, ніж у особин з водосховища (рис. 4).

У той же час у печінці верховодки з оз. Кирилівського вміст глікогену був вищим. Це вказує на меншу вразливість цього виду до перепадів кисневого режиму і токсикологічного навантаження завдяки особливостям поведінки і здатності уникати несприятливих умов, а також про стабільність її метаболізму. Завдяки цим властивостям верховодка є домінуючим видом у р. Сирець та оз. Луговому, які перебувають під значним антропогенним навантаженням [9].

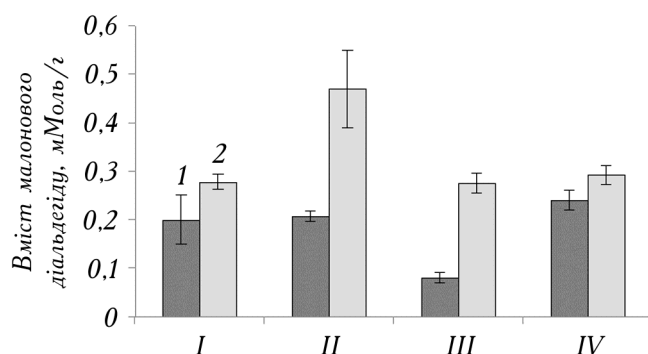


4. Вміст глікогену (а) і загальних ліпідів (б) у печінці різних видів риб.

Відомо, що ліпідний обмін перебуває у тісному зв'язку з вуглеводневим, оскільки при енергетичному забезпеченні процесів життєдіяльності організму вуглеводи використовуються на початкових етапах енергетичного обміну, а ліпіди у подальшому. У випадку нестачі вуглеводів для задоволення потреб організму в енергії посилено використовуються жири як наступне «енергопаливо» [14]. Також ліпіди можуть утворюватись внаслідок надлишку вуглеводів, при їх окисненні відбувається синтез ліпідів і жиронакопичення [10], зокрема при надходженні до організму токсичних сполук. Це вказує на компенсаторні реакції відносно збільшення інтенсивності обмінних процесів шляхом депонування ліпідів, що зумовлено необхідністю їх локалізації у тканинах [12, 22].

Встановлено, що у краснопірки з оз. Кирилівського, де концентрація розчиненого кисню знижена, інтенсивно накопичувалися ліпіди, які, можливо, утворилися у результаті катаболізму глікогену. Таким чином, відбувався перерозподіл енергоресурсів у печінці. Динамічність вмісту та високий метаболічний статус ліпідів дають можливість риbam адаптуватися до зміни умов існування, у тому числі і за токсичного навантаження [10, 14]. Жирові депо мають захисну дію, оскільки ліпіди беруть важливу участь у процесах екскреції та детоксикації токсичних сполук, чим можуть посилювати резистентність організму. У краснопірки з оз. Кирилівського вміст загальних ліпідів у печінці був на 26,5% вищим, ніж у особин з водосховища. У той же час у окуня і йоржа їх вміст був відповідно на 38,0 і 36,8 % нижчим. Відомо, що для подолання гіпоксичного стресу внаслідок мінливості умов водного середовища окуневі риби використовують енергетичні ресурси у вигляді ліпідів печінки [24].

Малоновий діальдегід (МДА) є одним з кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а його вміст вказує на інтенсивність процесу. Реакція на токсичний вплив у риб, як правило, не обходиться без різкої інтенсифікації ПОЛ [6, 7]. На його інтенсивність впливають також температура, хімічний склад води, насиченість її киснем, тощо. Процеси ПОЛ є однією з перших та найбільш мобільних складових адаптаційної перебудови організму за дії екстремальних чинників. Так, зокрема, за дії несприятливого



5. Вміст малонового діальдегіду у печінці риб з різних водойм.

кисневого режиму в оз. Кирилівському вміст МДА у печінці краснопірки, верховодки, окуня і йоржа зріс відповідно в 1,2, 1,4, 2,3 і 3,4 рази (рис. 6).

Таким чином, у окуня і йоржа процеси ПОЛ були більш інтенсивними, що вказує на вищий ступінь розвитку стресу під впливом несприятливих умов у цих видів порівняно з

іншими. Це, зокрема, визначається видовою специфікою спрямованості метаболізму. Таким чином, тривале перебування риб у забрудненому середовищі призводить до порушень компенсаторно-захисних механізмів, що у подальшому може викликати летальні випадки. Це характерно для риб придонного комплексу, загибель яких часто відмічали за період досліджень у прибережній ділянці оз. Кирилівського, зокрема бичка пісочника *Neogobius fluviatilis* (Pallas), коропа *Cyprinus carpio* (L.), плоскирки *Blicca bjoerkna* (L.).

### Висновки

За погіршення екологічної ситуації у водоймі, зниження вмісту розчиненого кисню у воді і при періодичному надходженні токсикантів у риб суттєво змінюються біохімічні показники, а саме зростає активність ЛДГ у зябрах та м'язах при одночасному зниженні активності СДГ. У печінці риб, зокрема окуня та йоржа, при антропогенному забрудненні водойми значно підвищується активність лужної фосфатази та активуються процеси фосфорилування. У печінці окуня і йоржа зростає також активність гама-глутамілтранспептидази, що, вочевидь, вказує на порушення функціонування цього органу, викликаного надходженням до тканин токсикантів.

Внаслідок зміни активності ферментів енергетичного обміну суттєво змінюється вміст вуглеводів та жирів у тканинах. За дії несприятливих умов у печінці риб зростає вміст малонового діальдегіду, що вказує на стресові явища, викликані токсичними речовинами та несприятливими умовами оточуючого середовища.

Отже, за результатами досліджень встановлено, що до погіршення екологічного стану водойми найбільш опірним і екологічно пластичним видом риб є верховодка, найбільш вразливими — йорж та окунь.

Основними адаптивними реакціями риб до дії посиленого антропогенного забруднення виявилися зміни спрямованості енергетичного забезпечення з аеробного дихання на гліколіз, посилення процесів фосфорилування у тканинах і знешкодження токсикантів у печінці.

\*\*

*Рассмотрены особенности адаптивных реакций разных видов рыб на воздействие антропогенной нагрузки. При неблагоприятных условиях существования у большинства рыб возрастает активность лактатдегидрогеназы в жабрах и мышцах и ингибируется активность сукцинатдегидрогеназы. Установлено, что по ряду биохимических показателей верховодка является наиболее экологически пластичным видом рыб. Полученные результаты можно использовать для проведения биомониторинга водоемов и установления экологически уязвимых или устойчивых видов рыб.*

\*\*

*The features of adaptive responses of different fish species to the impact of anthropogenic load was considered. Under unfavorable habitat conditions in most fish species lactate dehydrogenase activity in gills and muscles increased, whereas activity of succinate dehydrogenase decreased. By a series of biochemical parameters the bleak is the most environmentally plastic species. This result can be used for biomonitoring of the water bodies and identify environmentally sensitive and resistant species of fish.*

\*\*

1. Булахов В.Д., Новицкий Р.О., Пахомов О.С., Христов О.О. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Круглороті (Cyclostomata). Риби (Pisces). — Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетров. ун-ту. — 2008. — 304 с.
2. Жежеря В.А., Загорожна Г.М., Батог С.В., Жежеря Т.П. Гідроекологічна характеристика озер системи Опечень (м.Київ) // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем Зб. матеріалів III наук.-практ. конф. для молодих вчених, 6—7 жовтня 2016 р. — Київ, 2016. — С. 20—23.
3. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Уч. пособие. — Л.: Изд-во Ленинград ун-та, 1982. — 272 с.
4. Моисеенко Т.И. Стратегия ответов организма и популяций рыб на антропогенный стресс // Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира почвенного покрова Восточной Финноскандии. Мат. науч.-практ. конф., Петрозаводск, 6—10 сентября 1999 г. — Петрозаводск, 1999. — С. 243—282.
5. Немова Н.Н. Механизмы биохимической адаптации у водных организмов // Экологические и эволюционные аспекты. — Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2010. — Т. 1. — С. 198—214.
6. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. — М.: Наука, 2004. — 225 с.
7. Немова Н. Н. Оценка состояния водных организмов по эколого-биохимическому статусу // Северные территории России: проблемы и перспективы развития. Мат. Междунар. науч. конф., Архангельск, 23—26 июня 2008 г. — Москва, 2008. — С. 995—998.
8. Особа І.А. Біологічна роль перекисного окиснення ліпідів у забезпеченні функціонування організму риб // Рибогосп. наука України. — 2013. — № 1. — С. 88—96.



9. Панасюк І.В., Томільцева А.І., Зуб Л.М., Погорелова Ю.В. Якість води у міських водоймах та характер освоєння водоохоронних зон (на прикладі озер системи Опечень, м. Київ) // Екологічна безпека та природокористування. — 2015. — № 4. — С. 63—69.
10. Попова Е.М., Кошій І.В. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу // Рибогосп. наука України. — 2007. — № 1. — С. 49—56.
11. Причепя М.В., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Особливості зміни деяких біохімічних показників у різних екологічних груп риб за дії антропогенного навантаження // Біол. системи. — 2017. — Т. 9, Вип. 1. — С. 39—43.
12. Романенко О.В, Арсан О.М, Кіпніс Л.С., Ситник Ю.М. Екологічні проблеми київських водойм і прилеглих територій. — К.: Наук думка, 2015. — 189 с.
13. Северин С.Е., Соловьева Г.А. Практикум по биохимии: Уч. пособие. — М.: Изд-во Моск. ун-та 1989. — 509 с.
14. Сергеева Н.Р., Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. — Краснодар: Наука. — 2008. — 157 с.
15. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биологии. — М.: Методика, 1977. — С. 66—68.
16. Хільчевський В.К., Савицький В.М., Красова Л.А., Гончар О.М. Польові та лабораторні дослідження хімічного складу води р. Рось / За ред. В.К. Хільчевського. — К.: Вид-во Київ. ун-ту, 2012. — 143 с.
17. Almeida J.A., Diniz Y.S., Margues S. F. et al. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination // Environ. Intern. — 2002. — Vol. 270. — P. 673—679.
18. Chandravathy V.M., Reddy S.L.N. Lead nitrate exposure changes in carbohydrate metabolism of freshwater fish // J. Environ. Biol. — 1991. — Vol. 17, N 1. — P. 75—79.
19. Goksyr A., Beyer J., Husiy A.M et al. Accumulation and effects of aromatic and chlorinated hydrocarbons in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) caged in a polluted fjord (Sirfjorden, Norway) // Aquat. Toxicol. — 1994. — Vol. 29. — P. 21—35.
20. Lowry O.H., Rosenberg N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.
21. Martin D.P.P., Arivoli S. Biochemical study of freshwater fish *Catla catla* with reference to mercury chloride // Iran J. Environ. Health. Sci. — 2008. — Vol. 5, N 2. — P. 109—116.
22. Nwamba H., Chidobem O., Joseph I. Toxicity of products and detergent on serum alkaline phosphatase concentration of *Clarias gariepinus* juveniles // Animal. Res. Intern. — 2009. — Vol. 6, N 3. — P. 1045—1048.
23. Prychepa M.V., Potrokhov O.S. Physiological-biochemical state of the river perch *Perca fluviatilis* under different conditions of wintering // Hydrobiol. J. — 2014. — Vol. 50, N 5. — P. 71—77.

24. Prychepa M.V., Potrokhov O.S. Physiological and biochemical status of fishes of the fam. Percidae in winter // Ibid. — 2015. — Vol. 51, N 1. — P. 90—97.
25. Rajamanickam V., Muthuswamy N. Effect of heavy metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) // Intern. J. Sci. Tech.— 2008. — Vol. 2, N 1. — P. 192—200.
26. Thirumalavan R. Effect of cadmium on biochemical parameters in fresh water fish, *Oreochromis mossambicus* //Asian J. Sci. Technol. — 2010. — Vol. 5. — P. 100—104.

Інститут гідробіології НАН України, Київ

Надійшла 05.03.18