

УДК 557.12:[597.556.331.1.:597.551.2]:628.394

В.М. МАРЦЕНЮК, к. б. н., мол. наук. співроб.,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна
wmarzenuk@gmail.com
ORCID 0000-0002-9998-0445

М.В. ПРИЧЕПА, к. б. н., наук. співроб.,
Інститут гідробіології НАН України,
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна
ORCID 0002-3114-2402

О.М. МАРЕНКОВ, к. б. н. доц.,
Дніпровський національний університет ім. О. Гончара,
просп. Гагаріна, 72, Дніпро, 49010, Україна
ORCID 0000-0002-3456-2496

ЗМІНА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА ЙОННОГО ОБМІНІВ І ВМІСТУ ЕНЕРГЕТИЧНИХ СУБСТРАТІВ У ТКАНИНАХ ОКУНЯ *PERCA FLUVIATILIS* ТА ПЛІТКИ *RUTILUS RUTILUS* ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ

Розглянуто вплив токсичного забруднення на зміну активності ферментів енергетичного та йонного обміну в тканинах плітки та окуня. Встановлено істотні зміни вмісту енергетичних субстратів у тканинах печінки, зябер та м'язів окуня та плітки залежно від сезону та токсичного навантаження. Показано, що кількісно вміст глікогену у печінці окуня із забрудненого озера (Кирилівського) нижчий, ніж у особин із контрольного озера (Бабиного). Також встановлено нижчу активність СДГ у тканинах м'язів та зябрах плітки. Аналогічні закономірності нами були показані й для окуня. У плітки відмічено вищу активність ЛДГ у тканинах м'язів, що свідчило на користь залучення гліколізу. У свою чергу, у м'язовій тканині окуня встановлено протилежні зміни активності цього ферменту. Слід наголосити, що плітка відзначалась більшою варіабельністю за активністю досліджуваних ферментів. Це свідчить про видову специфічність метаболічних реакцій досліджуваних риб щодо протидії токсичному забрудненню. Встановлено, що в тканинах зябер окуня підвищується активність аденозинтрифосфатази у 1,77–1,79 рази. На противагу цьому, у плітки встановлено зниження активності цього ферменту. Це підтверджує тезу щодо міжвидових відмінностей цих риб у регулюванні обмінних процесів за токсичного впливу на їхній організм, а також посиленні чи ослабленні йонного обміну. Зафіксовано зниження активності цитохромоксидази у тканинах

Ц и т у в а н н я: Марценюк В.М., Причепа М.В., Маренков О.М. Зміна активності ферментів енергетичного та йонного обміну і вмісту енергетичних субстратів у тканинах окуня *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758) та плітки *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) за умов токсичного забруднення водойм. *Гідробіол. журн.* 2022. Т. 58. № 6. С. 74–90.

з'ябер у 1,43—1,68 рази. Це свідчить про пригнічення ферментативних систем, які забезпечують окиснення субстратів і транспорт електронів. Також це може призводити до зниження генерування енергії та використання її клітинами. Отримані результати дозволяють проводити моніторингові дослідження природних угруповань аборигенних риб з ціллю виявлення потенційних забруднювачів, спираючись на зміну активності ферментів енергетичного обміну.

Ключові слова: риба, активність ферментів, токсичне забруднення, адаптивні реакції, біомоніторинг.

Дана робота є продовженням дослідження адаптивних реакцій риб в умовах надмірного антропогенного навантаження та трансформації водних екосистем м. Києва. Однією із причин глобальної екологічної кризи є посилення кліматичних змін та надходження до водойм великої кількості токсичних сполук. Активне антропогенне втручання у функціонування природних об'єктів та масштабні проекти, серед яких одамбовування берегів, скидання до водойм неочищених комунально-побутових стоків, незаконне будівництво з порушенням діючого законодавства — у зв'язку з цим у водоймах відбуваються істотні зміни гідрохімічного та гідрологічного характеру [45]. Це призводить до скорочення екологічних ніш та часткового зменшення біорізноманіття водних тварин [4]. Більша частина хімічних речовин, що надходять у водойми зі стічними водами та атмосферними опадами, є токсичними для гідробіонтів. Також встановлено, що вплив різноманітних токсикантів на водні екосистеми має комплексний характер, а роль окремих компонентів не завжди можна виділити і оцінити [14]. Окрім цього відомо, що ступінь токсичності для організмів змінюється протягом року залежно від поведінки риб та їхнього фізіологічного стану у різні пори року. Особливо гостро ця проблема постає у містах, де в умовах посиленого росту процесів урбанізації, окрім промислових відходів, у водойми зливаються стоки комунального господарства, а також залишки побутового сміття [9]. За таких умов у гідробіонтів формуються адаптивно-компенсаторні механізми у відповідь на дію токсикантів різної хімічної природи, що відображається, в першу чергу, у зміні інтенсивності обмінних процесів [18, 26].

Розвиток інфраструктури м. Києва неминуче посилює антропогенне навантаження на водойми, тим самим погіршуючи екологічну ситуацію навіть у відносно благополучних гідроекосистемах [11]. Якість водного середовища визначається наявністю різного роду токсикантів у воді, донних відкладах та організмах гідробіонтів. Хімічні методи вимірювання кількості ксенобіотиків дозволяють встановити лише її відповідність існуючим нормам, проте реальний біологічний ефект мало враховується [12, 13]. У зв'язку з цим виникає необхідність у розробці достовірних методів та критеріїв екологічної оцінки водойм, а також токсикологічного контролю за їхнім станом. Одними з таких критеріїв можуть бути біохімічні показники гідробіонтів [38, 42]. Зокрема, це стосується зміни активності основних ферментів енергетичного (лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази) та йонного (Na^+ , K^+ -АТФ-ази) обміну, які можуть внести ясність у розуміння процесів залучення окре-

мих складових енергетичного обміну у процесі адаптації риб до токсичного забруднення водойм [19, 22, 32, 41].

Виходячи із вищесказаного, метою дослідження було встановити особливості сезонних змін фізіолого-біохімічних показників окуня та плітки за впливу токсичного забруднення водойм та можливість використання цих показників для оцінки стану водойми.

Матеріал і методика досліджень

Дослідження проводили у квітні — жовтні 2018 р. на водоймах правобережної заплави м. Києва. Районам для досліджень слугували оз. Кирилівське (Оболонський р-н) (50°29'52" N 30°29'38" E) і оз. Бабине (Труханів острів) (50°28' N 30°32'42" E). Детальна характеристика озер наведена у роботі [34]. На несприятливий екологічний стан озера наголошують численні дослідження, проведені у минулі роки [6, 9, 10, 11, 44]. Відлов риб здійснювали ранньою весною, в середині літа та восени (2017 р.) гачковими знаряддями лову. Об'єктами дослідження були окунь річковий *Perca fluviatilis* L. — придонно-пелагічний хижак та плітка звичайна *Rutilus rutilus* L. — придонно-пелагічний поліфаг. Досліджувані риби мали такі розмірно-масові показники: окунь був масою 28,8±1,2 г, довжиною 13,9±0,7 см; плітка була масою 18,6±0,8 г, довжиною 10,5±0,7 см.

Вміст розчиненого кисню у воді визначали методом Вінклера [2]. Щоденний показник (рН) оцінювали за допомогою рН-метра РН-009 (1), загальну мінералізацію води — ТДС-метра IDS-2, температуру — ртутним лабораторним термометром із ціною поділки 0,1 °С. Вміст окремих іонів, токсичних сполук у воді було взято з літературних джерел та даних санітарно-епідеміологічної станції. Вміст металів (Zn, Cd, Pb, Co, Ni, Fe, Mn, Mg, Ca, Na, K, Cu) у дослідних водоймах вимірювали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 із використанням відповідних стандартів після концентрування відібраних зразків води шляхом випарювання [8].

У риб відбирали зразки зябер, печінки і м'язів та в подальшому їх гомогенізували. У лабораторних умовах спектрофотометрично визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) з використанням стандартного комерційного набору «ЛДГ» (Філісіт-Діагностика, Україна). Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) встановлювали стандартним методом, за кількістю відновленого гексаціаноферату (III) калію [3]. Активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази оцінювали за наростанням у реакційній суміші вмісту неорганічного фосфору, який виявляли за методом Фіске та Суббароу [23] і перераховували на 1 мг білка. Активність цитохромоксидази (ЦО) визначали за методом, описаним Р.С. Кривченковою [7]. Вміст білка у м'язах, печінці та зябрах визначали за Лоурі [33]. Вміст глікогену у печінці — за допомогою антронового реактиву, відповідно до методу [3], вимірюючи інтенсивність червоного забарвлення, отриманого в результаті реакції, на концентраційному фотоелектрокалориметрі КФК-2МП. Статистичну обробку даних здійснювали за загальноприйнятими методиками з використанням програм Microsoft Excel 2010 та Statistica 8.0 (StatSoftInc, США).

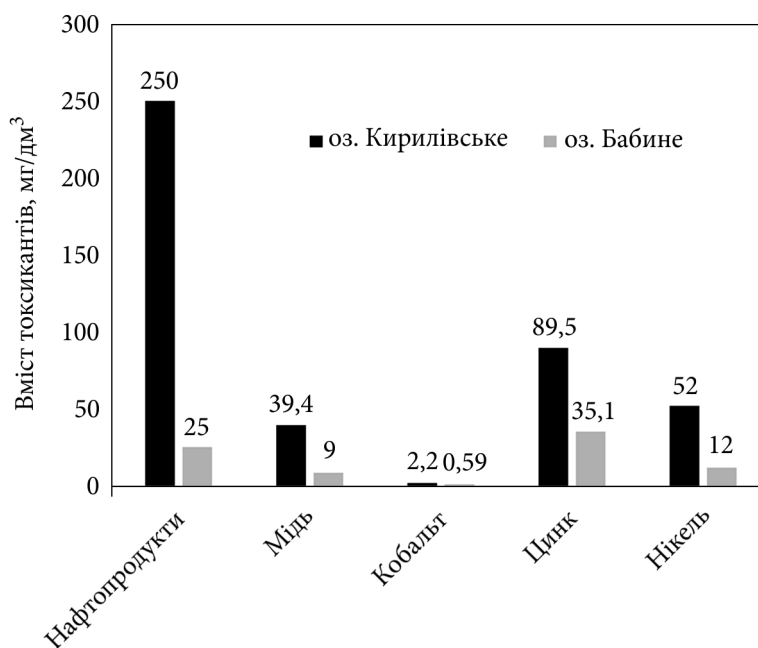


Рис 1. Вміст токсикантів у досліджуваних водоймах, мг/дм³

Для порівняння середніх значень біохімічних показників використовували *t*-критерій Стьюдента при рівні значущості $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

За результатами досліджень було виявлено високі концентрації токсичних сполук у оз. Кирилівському, зокрема вміст цинку, нікелю та нафтопродуктів (рис. 1).

Значна концентрація нафтопродуктів в оз. Кирилівському може пояснюватись географічним розташуванням водойми, зокрема на близькій відстані до автозаправних станцій та автошляхів. Інший негативний чинник, що свідчить про погіршення якості води — це підвищення загальної мінералізації та співвідношення йонів. Надходження в оз. Кирилівське значної кількості хлоридів (118—133,5 мг/дм³ та сульфатів (60—137 мг/дм³) [34] свідчить про підвищений рівень мінерального забруднення водойми, що створює нетипові умови для існування риб басейну верхнього Дніпра (де середня мінералізація води становить 250—350 мг/дм³) (рис. 2).

У свою чергу, концентрація цих сполук в оз. Бабиному становила: хлоридів (22,2—47,7 мг/дм³) та сульфатів (15,5—23,07 мг/дм³).

У результаті досліджень було встановлено, що інтенсивність біосинтетичних процесів у тканинах досліджуваних видів риб характеризується сезонною залежністю. Варто відмітити, що у зябрах плітки з оз. Кирилівського у весняний період зареєстровано доволі високий загальний

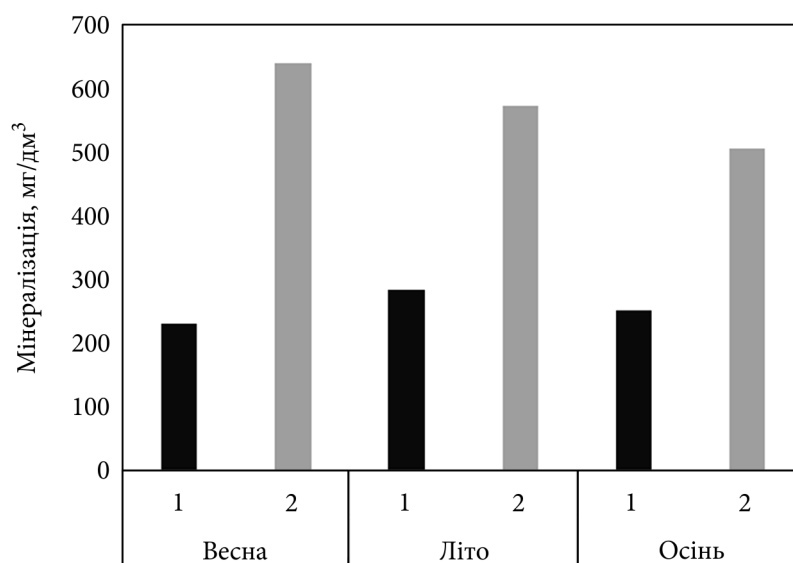


Рис. 2. Показники загальної мінералізації, мг/дм³: 1 — оз. Бабине; 2 — оз. Кирилівське

вміст білків — 342,6 мг/г, проти 161,2 мг/г у цього виду із оз. Бабиного. Накопичення білка у зябрах плітки весною може бути механізмом ізоляції від шкодочинної дії середовища із надмірним забрудненням, викликаним надходженням до акваторії токсичних сполук із р. Сирець, в тому числі і фенолів [11]. У дослідженнях [42] відмічено, що за дії фенольних сполук, а саме фенолу та крезолу, на організм деяких риб спостерігається зростання вмісту білка у тканинах їхніх зябер та одночасне його зниження у печінці, що вочевидь вказує на тканинний перерозподіл енергетичних сполук. Це може свідчити про інтенсивний анаболізм білка у зябрах цього виду. Влітку ж величина цього показника у плітки з оз. Кирилівського у 1,43 раза нижча від весняного рівня (рис. 3). Щодо плітки із оз. Бабиного, то найвищий вміст білка у зябрах цього виду було встановлено влітку — 326,7 мг/г, що вище від весняної та осінньої величини відповідно у 2,02 та 1,36 рази (рис. 3).

В окуня з обох озер міжсезонна динаміка вмісту білка у зябрах виражена слабо, проте варто відмітити найвищий вміст величини цього показника в особин з оз. Бабиного у літній період. Часто інтенсифікацію процесів синтезу білка в печінці риб у переднерестовий період пов'язують із ростом генеративної тканини (дозріванням гонад). У печінці плітки з оз. Кирилівського протягом усього дослідного періоду вміст білків кількісно менший, ніж у відповідного виду з оз. Бабиного. Відповідне зниження може бути наслідком залучення цих субстратів у процеси, пов'язані із детоксикацією організму [27]. Враховуючи, що ці процеси енергозатратні і потребують значної кількості енергетичних ресурсів організму, то вірогідно, це могло спричинити інтенсивне використання біл-

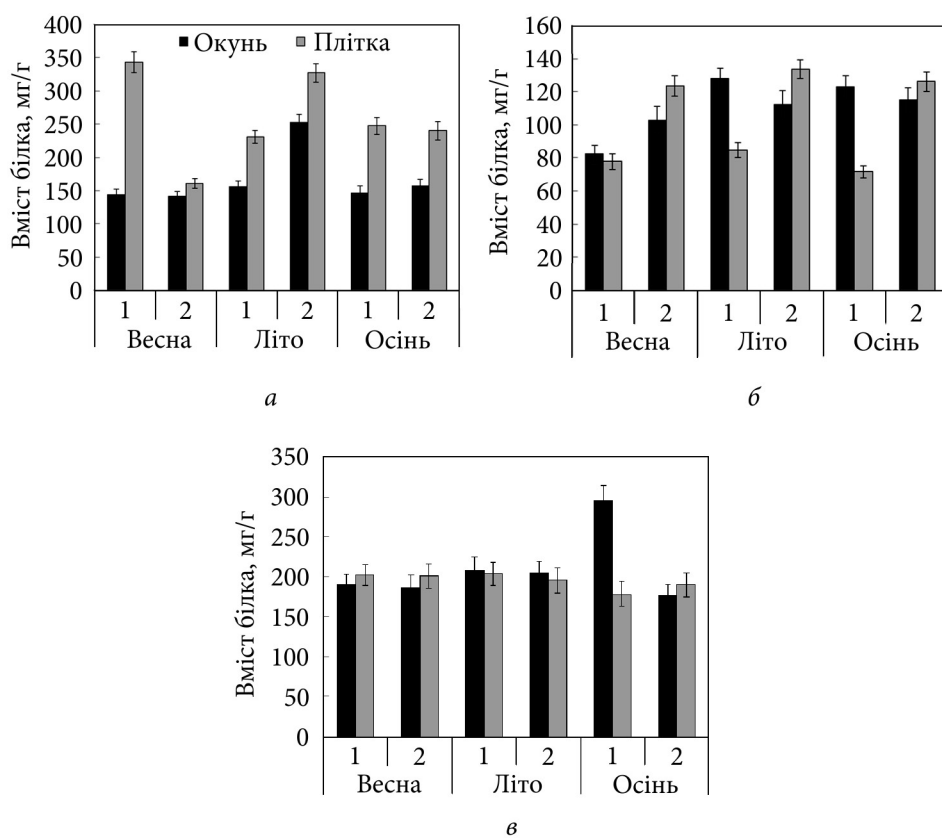


Рис. 3. Вміст білків у зябрах (а), печінці (б) та м'язах (в) риб ($M \pm m$, $n = 5$). Тут і на рис. 4—8: 1 — оз. Кирилівське (Опечень II); 2— оз. Бабине

ків. У печінці окуня з оз. Кирилівського у весняний період зафіксовано найменший порівняно з іншими сезонами вміст білків. Це підтверджує, що переднерестовий період характеризується активізацією обмінних процесів у риб, що виражається у різкому посиленні витрат запасних енергетичних сполук, а саме залученні білка в енергетичний обмін. У м'язах риб з обох досліджуваних озер за вмістом білка сезоннозалежної закономірності не виявлено. Можна лише відмітити восени підвищений вміст білків у білих м'язах окуня з оз. Кирилівського, що може вказувати на пригнічення катаболізму білка у період підготовки до зимівлі. Також відповідна величина цього показника може бути спричинена ускладненими умовами зимівлі (перепадами кисневого режиму у комплексі з надходженням токсикантів різної природи). Не виключено, що надмірне антропогенне навантаження на оз. Кирилівське могло спричинити зміну інтенсивності синтезу та перерозподілу енергоємних сполук у тканинах риб. Внаслідок цього значна частка білка як альтернативного «джерела енергії» використовувалась на адаптивні реакції риб на дію несприятливого чинника [1, 43]. Це могло відобразитись на нормальному проход-

ISSN 0375-8990. Гідробіологічний журнал. 2023. 59(1) 79

женні нересту, що підтверджується значною кількістю нерезорбованої ікри у гонадах окуня (візуальний огляд). Кінцевим результатом цього може бути загальне виснаження організму окуня, що виражається у низькому вмісті білка в тканинах печінки. За результатами досліджень встановлено, що вміст глікогену у печінці плітки з оз. Бабиного у весняний період вірогідно ($p \leq 0,05$) вищий у 2,81 раза щодо плітки з оз. Кирилівського (рис. 4). У плітки з оз. Кирилівського спостерігається накопичення глікогену у печінці з весни до осені. Вищий вміст глікогену у тканинах печінки плітки з оз. Бабиного весною порівняно з особинами із забрудненого озера може свідчити про накопичення глікогену організмом цього виду в переднерестовий період. В оз. Кирилівському поряд із значними концентраціями важких металів, що перевищують референтні значення, встановлено високий вміст нафтопродуктів (перевищення реф. значень у 4,5 та 9,8 раза відповідно). Ці сполуки часто вважаються більш токсичними ніж важкі метали, оскільки впливають на самих риб і трофічну складову. Відомо, що надмірне накопичення важких металів та нафтопродуктів в організмі риб викликає деякі зміни в процесах метаболізму пластичних сполук. При цьому встановлено, що деякі важкі метали здатні викликати функціональні порушення органів кровотворення і розмноження. Внаслідок цього може відбуватись деяке пригнічення процесів гемопоезу та гаметогенезу [1]. Нафтопродукти істотно впливають на дихальну функцію організму. В цілому вищезгадані токсиканти створюють забруднення, яке є надмірним для даної водойми. Це значною мірою може впливати на інтенсивність метаболізму риб та визначати рівновагу між процесами глікогенезу та глікогенолізу. Накопичення глікогену у печінці плітки з оз. Кирилівського з весни до осені може відбуватись з низки причин, що пов'язані з умовами існування. Згідно попередніх досліджень на цих же рибах у зазначених водоймах, вміст глюкози в плазмі крові плітки з оз. Кирилівського весною нижчий, ніж влітку [34], що корелює із вмістом глікогену у печінці. Враховуючи, що вміст білків у печінці плітки весною нижчий порівняно з літом, можна припустити, що процеси глюконеогенезу у даного виду домінували над процесами глікогенолізу (тобто глюкоза більшою мірою утворювалась із амінокислот). У плітки з оз. Бабиного спостерігається обернена закономірність щодо вмісту глюкози та глікогену, що може вказувати на активний перебіг глікогенолізу. У свою чергу, в печінці окуня вміст глікогену був кількісно вищий в оз. Бабиному (протягом весни та літа), ніж аналогічний показник у риб з оз. Кирилівського. Очевидно, що риби із забрудненого озера активно використовують цей субстрат на енергетичні потреби. Не виключено також, що накопичення цього вуглеводу в печінці окунів з обох озер влітку може бути механізмом протидії гіпоксичним умовам, які виникали внаслідок підвищення температури води. Це виражається у посиленому накопиченні енергоємних сполук і може бути проявом адаптації до нестабільних та несприятливих умов оточуючого середовища. Слід зауважити, що за умов токсичного забруднення водойми у тканинах печінки окуня зареєстровано нижчий вміст глікогену. Низький вміст гліко-

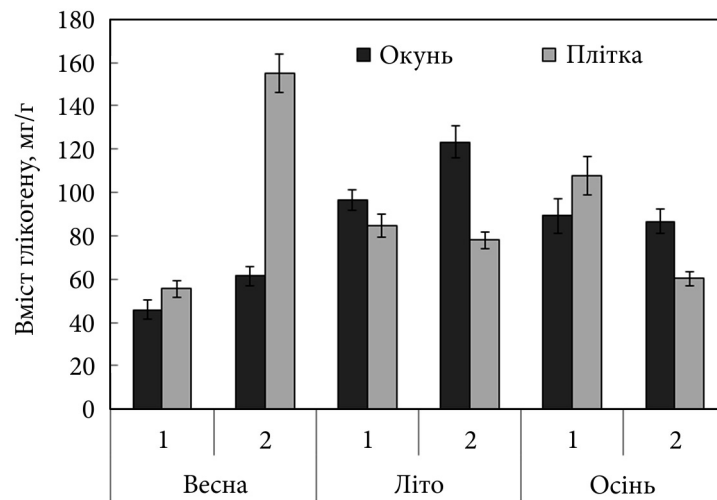


Рис. 4. Вміст глікогену в печінці риб ($M \pm m$, $n = 5$)

гену у печінці вказує на переважання катаболічних процесів над анаболічними, що може бути наслідком як його підвищених витрат, так і зниження накопичення. Можна припустити, що така особливість метаболізму зумовлена зростанням енерговитрат на адаптацію до дії негативних умов, зокрема токсичного забруднення [31].

Щодо окуня з оз. Кирилівського, то найвищий вміст глікогену у його печінці зафіксовано влітку (96 мг/г). У відповідного виду із оз. Бабиного найвищий вміст цього субстрату встановлено також влітку, а саме 122 мг/г, що вище за рівень у весняних та осінніх екземплярів відповідно у 1,96 та 1,41 раза. Варто відмітити, що кількісно вміст глікогену у печінці окуня з Кирилівського нижчий, ніж у особин з контрольного озера (оз. Бабине).

Щодо ферментів енергетичного обміну, то за їхньою активністю встановлено міжсезонну динаміку між домінуванням аеробних та анаеробних шляхів генерування енергії. У зябрах плітки з оз. Бабиного влітку зареєстровано вірогідно ($p \leq 0,05$) найвищу активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та найнижчу активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) порівняно з іншими сезонами. Характерним є те, що активність ЛДГ у зябрах плітки з оз. Кирилівського в кожен досліджений сезон була вищою, ніж з оз. Бабиного. Вірогідне підвищення ЛДГ та зниження СДГ у зябрах плітки з оз. Кирилівського (влітку) порівняно з іншими сезонами може вказувати на домінування гліколітичних процесів у респіраторному апараті цього виду. Подібні зміни можуть бути викликані значним вмістом багатьох токсикантів у водному середовищі, які перевищують референтні значення (див. рис. 1).

Підвищення температури води в літній період підсилює токсичну дію забруднювачів, тим самим стимулюючи активацію анаеробних процесів

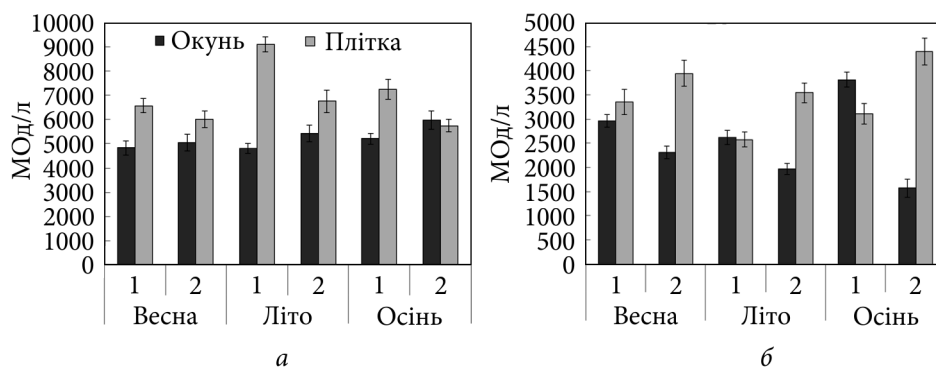


Рис. 5. Активність лактатдегідрогенази в зябрах (а) та м'язах (б) риб ($M \pm m$, $n = 5$)

метаболізму риб та розвитку гіпоксичного стану тканин. В окуня з обох озер чітко сезонно залежної закономірності за активністю ЛДГ у зябрах не виявлено, проте у м'язах цей критерій протягом всіх сезонів був вищим в особин з оз. Кирилівського. При цьому, найбільшу різницю було встановлено восени, а саме зростання активності ЛДГ у м'язах окуня з оз. Кирилівського в 2,36 раза щодо риб з оз. Бабиного (рис. 5). Переважання анаеробних гліколітичних процесів над аеробними у м'язах окуня із забрудненого озера може бути викликано наявністю у водоймі підвищеної кількості токсикантів (див. рис. 1). У зябрах було встановлену меншу активність ЛДГ у окуня з оз. Кирилівського порівняно з рибами з умовного контролю.

У м'язах плітки з оз. Кирилівського, навпаки, зареєстровано зниження активності ЛДГ у весняний, літній та осінній періоди відповідно у 1,19, 1,37 та 1,41 раза щодо особин із контрольного озера. Зниження активності ЛДГ у м'язах плітки з оз. Кирилівського протягом дослідного періоду порівняно з рибами з оз. Бабиного свідчить про пригнічення анаеробного розщеплення глюкози. Очевидно, що інтенсивність гліколізу у м'язових тканинах плітки з дослідного озера менша, ніж у риб з оз. Бабиного. Окрім цього показано, що за величиною активності ЛДГ плітка має більшу варіабельність, що надає їй лабільності в екологічно трансформованих умовах існування і фізіологічно відрізняє від окуня річкового.

За змінами активності СДГ можна дійти висновку, що аеробні процеси у зябрах окуня з оз. Кирилівського в літній та осінній періоди пригнічуються. А саме, зареєстровано зниження активності СДГ у зябрах особин з цього озера в літній та осінні періоди в 3,36 та 4,55 раза щодо риб з контрольного озера (рис. 5). Причиною зниження активності СДГ у зябрах окуня з оз. Кирилівського може бути пригнічення аеробного дихання у клітинах токсикантами, які знаходяться у воді [11]. Оскільки за активністю ЛДГ сезоннозалежних змін не виявлено, то очевидно в зябрах окуня основні механізми генерування енергії ускладнені. Не виключено, що це є розвинутою впродовж багатьох років перебування у цій водоймі

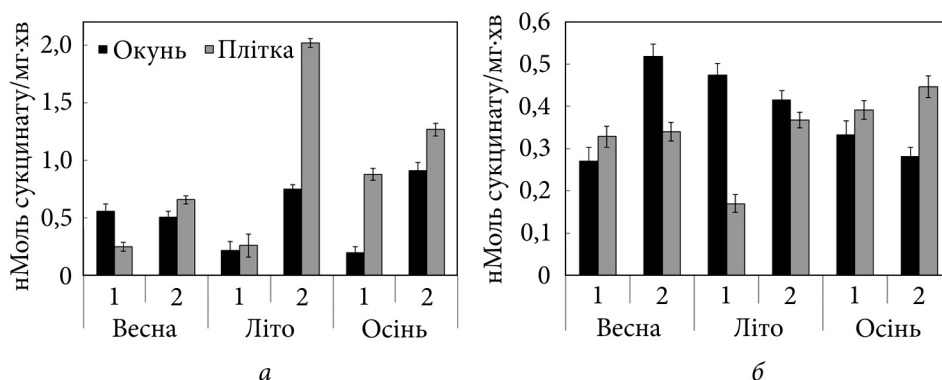


Рис. 6. Активність сукцинатдегідрогенази в з'ябрах (а) та м'язях (б) риб ($M \pm m$, $n = 5$)

адаптивною реакцією, що дозволяє цьому виду зберігати свої енергетичні ресурси. Аналогічні зміни активності зазначеного ферменту було відмічено у окуня восени 2016 р. на цьому ж озері [37]. Щодо плітки з оз. Бабиного, то активність СДГ у її з'ябрах влітку становила 2,02 нМоль/мг·хв., що вище за весняні та осінні величини відповідно у 3,10 та 1,60 раза (рис. 6).

Окрім цього, зазначена величина більша за активність СДГ у з'ябрах плітки із забрудненого озера в 7,76 раза. Подібна закономірність спостерігалась у всі сезони. Значно вища активність СДГ у з'ябрах плітки з оз. Бабиного порівняно з рибами з оз. Кирилівського може бути свідченням інтенсивного функціонування циклу трикарбонних кислот у з'ябрах риб влітку. Між активністю СДГ та ЛДГ у плітки (літо та осінь) виявлено зворотну кореляцію ($r = -0,99$ та $r = -0,9928$). На користь цього свідчить значне насичення поверхневих шарів води озера киснем. Це вказує на посилення аеробних окисно-відновних процесів у тканинах з'ябер риб, які займають пелагіальний шар води в озері. Отримані результати свідчать про значне пригнічення аеробних процесів у з'ябрах плітки з озера, яке підлягає посиленому антропогенному впливу. Як відомо, оз. Кирилівське в результаті діяльності промисловості забруднюється нафтопродуктами, СПАР, йонами важких металів та біогенними сполуками [9, 11]. Схожі результати були отримані під час досліджень впливу амонійного азоту на карася, коли відбулось зменшення активності СДГ в з'ябрах карася [30]. Для протидії токсикантам риbam потрібно витратити багато енергії. Найефективнішим способом її генерування є цикл Кребса. Однак не виключено, що в з'ябрах плітки з цього озера в результаті впливу токсикантів пригнічуються аеробні процеси, внаслідок чого генерується недостатня кількість енергії для забезпечення процесів ізоляції та детоксикації [40]. На протигагу плітці, у м'язях окуня з оз. Кирилівського зареєстровано вищу активність СДГ у літній та осінній дослідні періоди. Це, можливо, пояснюється інтенсифікацією аеробних окисно-відновних процесів, що

спричинена значною потребою в енергетичних ресурсах для забезпечення процесів детоксикації. Також не виключено фізіологічні та поведінкові особливості плітки за токсичних умов внаслідок багаторічного пристосування. Отже, функціонування гліколізу та циклу трикарбонових кислот у тканинах риб з обох дослідних озер великою мірою залежить від сили антропогенного впливу, а також йому властива чітка сезонна залежність.

АТФ-азна активність у тканинах риб у багатьох випадках корелює з активністю СДГ, проте все ж зафіксовано низку відмінностей. Так, активність цього ферменту в зябрах окуня з оз. Кирилівського у весняний, літній та осінній періоди була вищою відповідно у 1,79, 1,58 та 1,17 рази щодо цього виду з оз. Бабиного (рис. 7). Встановлено зворотно кореляцію ($r = -0,567$) між активністю СДГ та АТФ-ази у тканинах зябер окуня річкового (літній період) з оз. Кирилівського.

АТФ-азна активність тканин є не менш важливим критерієм при дослідженні енергетичного та йонного обміну тканин риб в умовах токсичного забруднення водойм [39]. Більшою мірою це стосується респіраторних органів, зокрема зябер, оскільки цей орган безпосередньо контактує з водним середовищем [42]. Токсиканти здатні проникати крізь клітинну мембрану, змінювати її плинність, а разом з цим впливати на функціональний стан ліпопротеїдних комплексів, насамперед АТФ-залежних транспортних систем [5]. Також подібну дію можуть чинити йони важких металів, вміст яких високий у дослідній водоймі (див. рис. 1).

При цьому, якщо порівнювати сезонну динаміку, то цей показник у зябрах окуня з оз. Кирилівського знижувався з весни до осені. Підвищення активності АТФ-ази у зябрах окуня з оз. Кирилівського може свідчити про активне проходження обмінних процесів у респіраторному апараті окуня із забрудненого озера. Також цю реакцію можна вважати захисним механізмом протидії підвищеній концентрації токсикантів у воді, в тому числі і йонів важких металів. Очевидно, у зябрових пелюстках за несприятливих умов активно відбувається гідроліз АТФ. Енергія, яка виділяється при цьому, використовується на підтримання йонного балансу.

У плітки з оз. Кирилівського зареєстровано нижчу АТФ-азну активність в зябрах у 2,15 та 1,31 рази відповідно у весняний та літній періоди щодо риб з оз. Бабиного (див. рис. 6). У м'язах риб з обох озер сезонна динаміка АТФ-азної активності виражена не чітко. Проте восени все ж встановлено підвищення активності ферменту в 1,72 та 1,28 рази відповідно у м'язах окуня та плітки з оз. Кирилівського щодо риб з контрольованого озера (див. рис. 7). Зниження активності АТФ-ази у плітки (весна, літо) може свідчити про низьку інтенсивність обмінних процесів у зябрах риб із забрудненого озера у ці періоди. Не виключено, що причиною цього може бути зміна проникності мембран клітин внаслідок токсичної дії водного середовища. При цьому пригнічується АТФ-залежна транспортна система мембран клітин зябер [15, 28, 36]. При зниженні активності цього ферменту в зябрах плітки ускладнюються процеси транс-

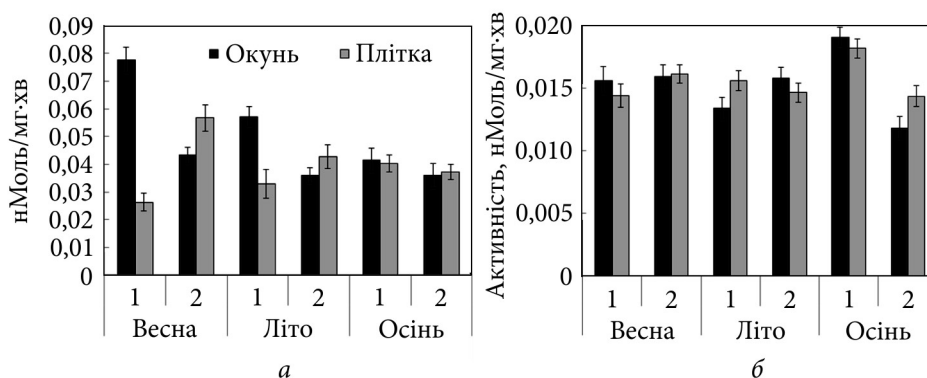


Рис. 7. АТФ-азна активність у зябрах (а) та м'язах (б) риб ($M \pm m$, $n = 5$)

портування йонів калію в клітини, а натрію — з них. Підвищення АТФ-азної активності у м'язах окуня та плітки з оз. Кирилівського восени є свідченням активного функціонування натрій-калієвої помпи мембран м'язових клітин [30]. Ці зміни можуть бути пов'язані з детоксикацією тканин риб, що відбувається із затратою значної кількості енергії. У такий спосіб риби можуть витримувати періоди посиленого антропогенного навантаження та зберігати нормальну життєздатність.

Найбільш доцільно досліджувати стан енергетичного обміну в тканинах риб, а саме функціонування дихального ланцюга мітохондрій, за активністю цитохромоксидази (ЦО) [17]. У зябрах окуня з оз. Кирилівського зареєстровано нижчу активність ЦО в 1,68 та 1,43 раза відповідно у літній та осінній періоди порівняно з особинами з контрольного озера (рис. 8). Нижча активність ЦО у зябрах окуня з оз. Кирилівського у літній та осінній періоди свідчить про пригнічення активності ферментних систем, які забезпечують окиснення субстратів і транспорт електронів дихальним ланцюгом мітохондрій. Це призводить до зниження генерування енергії та використання її клітинами. Відомо, що ЦО — векторний фермент внутрішньої мембрани мітохондрій, що відіграє ключову роль у регуляції швидкості окисного фосфорилування [16, 29, 35]. Низка авторів зазначала, що зниження активності цього ферменту за дії несприятливих чинників у риб відбувається внаслідок обмеження надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохром b-c [24]. Тому її використовують як індикатор інтенсивності аеробного окиснення субстратів у тканинах живих організмів [20, 25].

У зябрах плітки з оз. Кирилівського в літній період також відмічено в 1,59 раза нижчу активність ЦО, ніж у риб виду з оз. Бабиного (див. рис. 8). За отриманими даними зміни активності ЦО варто припустити, що за підвищення температури води в літній період у забрудненому озері підвищується негативний ефект токсикантів. Також ці зміни повністю корелюють з активністю СДГ, що є ще одним підтвердженням ускладненого

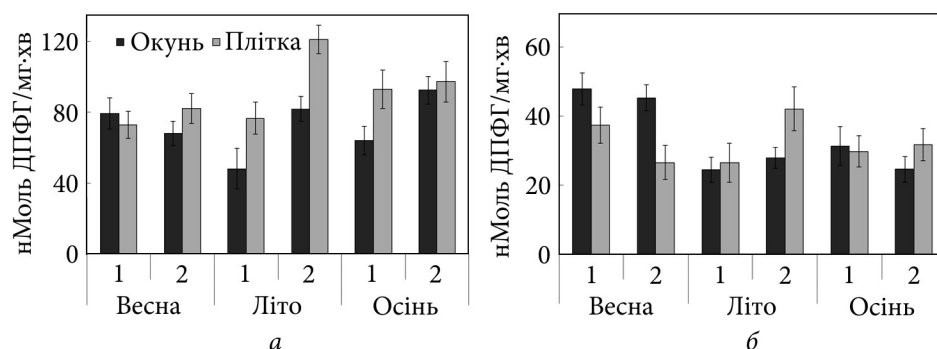


Рис. 8. Активність цитохромоксидази в зябрах (а) та м'язах (б) риб ($M \pm m$, $n = 5$)

функціонування циклу трикарбонових кислот та дихального ланцюга мітохондрій у зябрах риб з оз. Кирилівського [21].

У м'язах плітки зафіксовано вищу активність ЦО у оз. Кирилівському порівняно з рибами з умовного контролю. Можливо, зростання активності ЦО у плітки у весняний період пов'язане з тим, що риби більш вразливі у цей період до дії токсикантів водного середовища.

Влітку встановлено протилежні закономірності, а саме вищу активність ЦО в зябрах плітки з оз. Бабиного. Цей період характеризується стрімким підвищенням середньодобової температури води в озері, що впливає на процеси енергетичного обміну у риб та посилює негативну дію токсикантів. У м'язах окуня істотних змін за активністю ферменту не виявлено. Враховуючи надходження до оз. Кирилівського значної кількості токсичних сполук різної хімічної природи, негативна дія на організм риб посилюється, тим самим блокуючи дихальний ланцюг як піридиннуклеотидів так і флавопротеїдів [25]. Тому використання показника активності цього ферменту є доцільним при дослідженні впливу антропогенних чинників на організм водних тварин, зокрема для пошуку біохімічних маркерів.

У м'язах риб ситуація неоднозначна. Весною зареєстровано в 1,43 раза вищу активність ЦО в м'язах плітки з оз. Кирилівського порівняно з контрольним озером. Це є проявом активації обмінних процесів у м'язах плітки в переднерестовий період. Влітку встановлено протилежні закономірності, а саме вищу активність ЦО в зябрах плітки з оз. Бабиного в 1,61 раза щодо риб з оз. Кирилівського.

Висновки

За результатами проведених досліджень нами було встановлено, що за умов періодичного токсичного забруднення водойми у тканинах окуня та плітки істотно змінюється активність ферментів енергетичного та йонного обміну. При чому, зазначені зміни характеризуються сезонною залежністю. Вміст енергетичних субстратів також змінюється залежно від пори року.

Так показано, що у риб із забрудненої водойми знижується вміст енергетичних субстратів у весняний період, зокрема білків та глікогену, які активно залучені в обмінні процеси. Також встановлено вищу активність ЛДГ у зябрах плітки та нижчу активність цього ферменту у зябрах окуня із забрудненої водойми влітку. Це може свідчити про видову специфічність компенсаторних реакцій у цих риб на розвиток гіпоксичних умов у комплексі з дією токсичного забруднення.

Окрім того, на підвищений вміст токсикантів у досліджуваній водоймі обидва види реагували зниженням активності СДГ у зябрах. Вочевидь, це є свідченням пригнічення аеробних окисних процесів у зябрових тканинах на момент проведення досліджень.

У зябрах окуня та плітки із забрудненого озера встановлено зниження АТФ-азної активності з весни до осені. Це може бути пов'язано з послабленням інтенсивності йонного обміну в респіраторному апараті риб. Не виключено, що зазначені зміни є свідченням протидії токсичному впливу різних сполук.

Підтвердженням негативної дії токсичного забруднення на угруповання досліджуваних риб є також нижча активність цитохромоксидази у тканинах зябер окуня та плітки відповідно у 1,43 та 1,59 раза в літній період порівняно з умовним контролем.

Розвиток адаптивно-компенсаторних процесів у риб забезпечується за рахунок активації процесів гліколізу, посилення йонного обміну, інтенсивного використання білкових та вуглеводних субстратів.

За однакових умов у досліджуваних нами видів встановлено міжвидові сезоннозалежні відмінності у вмісті енергетичних субстратів та активності ферментів. Це пов'язано із специфікою адаптивно-компенсаторних особливостей обмінних процесів за умов токсичного забруднення середовища існування риб.

Отримані дані щодо активності ферментів відображають рівень токсичного забруднення у водоймах, що надає можливість їхнього використання як біоіндикаторів фізіологічного стану природних угруповань фонових видів водойм Києва.

Список використаної літератури

1. Ананьева Т.В., Федоненко О.В. Біохімічні показники тканин та органів окуня та судака з Запорізького водосховища. *Питання біоіндикації та екології. Запорізький нац. університет*. 2010. Т. 15, № 2. С. 223—231.
2. Арсан О.М., Давидов О.А., Дьяченко Т.М. та ін. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод*. Київ : Логос, 2006. 406 с.
3. Асатиани В.С. *Нові методи біохімічних досліджень*. Москва : Наука, 1965. 544 с.
4. Булахов В.Л. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Biological diversity of Ukraine. Dnipropetrovsk region. Риби. (Pisces). Дніпропетровськ : Дніпропетр. нац. ун-т. 2008, 304 с.
5. Грубінко В.В.. Інтегральна оцінка токсичного ураження біологічних систем. *Наук. зап. Терноп. нац. ун-ту. Серія. Біологія*. 2005. № 3. С. 111—114.
6. Жежеря В.А., Линник П.М., Зубенко І.В. Вміст та форми металів у озерах системи Опечень (Київ). *Наук. праці УкрНГМІ*. 2016. № 269. С. 70—86.

7. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохром оксидазы в митохондриальной суспензии. Современный метод в биохимии. Москва : Медицина, 1977. С. 47—49.
8. Новиков .В., Ласточкина .В., Болдина К.О., Болдина З.Н. Метод изучения качества вод в водоемах. Москва : Медицина, 1991. 400 с.
9. Панасюк І.В., Томільцева А.І., Зуб Л.М., Погорелова Я.В. Якість води у міських водоймах та характер забудови водоохоронних зон (на прикладі озер системи «Опечень», м. Київ). *Екологічна безпека та природокористування*. 2015. Т. 4, № 20. С. 63—69.
10. Прокопук М.С., Погорелова .В. Сезонна динаміка біогенних речовин у водоймах Києва. *Вісн. Запорізьк. нац. ун-ту*. 2017. № 1. С. 161—169.
11. Романенко О.В., Арсан О.М., Кіпніс Л.Д., Ситник .М. Екологічні проблеми водойм Києва та прилеглих територій. Київ : Наук. думка, 2015. 191 с.
12. Руднева И.И. Использование рыб как биоиндикаторов для экологической диагностики водоемов. *Рибне господарство України*. 2006. Т. 42, № 1. С. 20—23.
13. Руднева И.И., Кузьминова Н.С. Изменение некоторых маркеров у видов рыб, живущих в условиях хронического загрязнения. 2011. № 2. С. 8—12.
14. Сергеева Н.Р., Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. Краснодар: Наука, 2008. 159 с.
15. Afsar S., Govind B., Jaiswa D.P. Na⁺ K⁺ ATPase post exposure recovery from Lead intoxicated freshwater fish *Anabas testudineus*. *J. Experimental Sciences*. 2012. Vol. 3, N 8. P. 01—03.
16. Bouchard P., Guderley H. Time course of the response of mitochondria from oxidative muscle during thermal acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Experimental Biology*. 2003. Vol. 206 (19). P. 3455—3465. DOI: 10.1242/jeb.00578
17. Bremer K., Moyes C. D. Origins of variation in muscle cytochrome c oxidase activity within and between fish species. *J. Experimental Biology*. 2011. Vol. 214. P. 1888—1895. doi: 10.1242/jeb.053330
18. Cicik 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* (L, 1758). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2005. Vol. 29. P. 113—117.
19. de La Torre E.R., Ferrari L.L., Salibi n A. Biomarkers of a native fish species (*Cnesterodon decemmaculatus*) application to the water toxicity assessment of aperi-urbanpolluted river of Argentina. *Chemosphere*. 2005. Vol. 59, N 4. P. 577—583. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.12.039
20. Dugga A.T., Kocha K.M., Mon C.T. et al. Coordination of cytochrome c oxidase gene expression in the remodelling of skeletal muscle. *J. Experimental Biology*. 2011. Vol. 214. P. 1880—1887. DOI: 10.1242/jeb.053322
21. Emertli N.V., Rusinova O.S. The activity of enzymes of the main pathways of carbohydrate oxidation in fish tissues. *Hydrobiol. J.* 2011. Vol. 37, N 1. P. 79—86.
22. Fernandes C., Fontannhas-Fernandes A., Rocha E., Salgado M.A. Monitoring pollution in Esmorzi-Paramos lagoon, Portugal: liver histological and biochemical effects in *Liza sapiens*. *Environmental Monitoring and Assessment* 2008. Vol. 145. P. 315—322. DOI: 10.1007/s10661-007-0041-4
23. Fiske C.H., Subbarow Y.J. The colorimetric estimation of phosphorous. *Biol. Chem.* 1925. Vol. 66. P. 375.
24. Forgan L.G., Forster M.E. Oxygen dependence of metabolism and cellular adaptation in vertebrate muscles: a review. *J. Comparative Physiology B. Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*. 2012. Vol. 182, N 2. P. 177—188. DOI: 10.1007/s00360-011-0616-9
25. Goolish E.M. Aerobic and anaerobic scaling in fish. *Biological Reviews*. 1991. Vol. 66. P. 33—56.
26. Hochachka P.W., Somero G.N. Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution. New York : Oxford University Press, 2002.

27. Hori T.S.F., Avilez I.M., Inoue L.A., Moraes G. Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrinxá *Brycon cephalus* (teleostei: characidae) juveniles. *Comparative Biochemical Physiology*. 2006. Vol. 143, N 1. P. 67—72. DOI: org/10.1016/j.cbpc.2005.12.004
28. Hylland P., Milton S., Pek M. et al. Brain Na⁺/K⁺-ATPase activity in two anoxia-tolerant vertebrates: Crucian carp and freshwater turtle. *Neurosci. Dev.* 1997. Vol. 73. P. 117—123. DOI: 10.1016/s0304-3940(97)00727-1
29. Ivanskaya N.N., Antoneeva I.I. The activity of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase in the liver of rats during acute circulatory hypoxia. *Basic Research*. 2004. Vol. 4. P. 67—68.
30. Kovalenko Yu.O. Physiological and biochemical peculiarities of crucian carp adaptation to water bodies pollution by ammonia nitrogen. *Hydrobiol. J.* 2019. Vol. 55, N 3. P. 59—66.
31. Krot Yu. G., Medovnyk D.V., Prychepa M.V. Peculiarities of physiological adaptation in fishes of small rivers of the urbanized territories. *Ibid.* 2019. Vol. 55, № 1. P. 55—57. DOI: 10.1615/HydrobJ.v55.i1.50
32. Lavado R., Urena R., Martin-Skilton R. et al. The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. *J. Environ. Pollution*. 2006. Vol. 139. P. 330—339. DOI: 10.1016/j.envpol.2005.05.003
33. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biological Chemistry*, 1951. Vol. 193. P. 265—275
34. Martseniuk V.M., Potrokhov A.S., Zinkovskyi O.G., Prichepa M.V. Physiological-biochemical status of perch and roach in conditions of excessive anthropogenic pressure on the body of water. *Fischeries Science of Ukraine*. 2017. Vol. 4, N 42. P. 99—111. DOI: 10.15407/fsu2017.04.099
35. Montecucco C., Schiavo G., Bacci B., Bisson R. Isolation and characterization of cytochrome c oxidase from bird and fish heart mitochondria. *J. Comparative Biochemical and Physiology B*. 1997. Vol. 87, N 4. P. 851—856. DOI: 10.1016/0305-0491(87)90401-9
36. Parvez S., Sayeed L., Raisuddin S. Decreased gill ATPase activities in the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) exposed to a diluted paper mill effluent. *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2006. Vol. 65, P. 62—66. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.07.010
37. Prychepa M.V., Potrokhov O.S., Zin'kovskiy O.G. Peculiarities of biochemical response of fish to anthropogenic load under conditions of urbanization. *Hydrobiol. J.* 2019. Vol. 55, N 3. P. 44—52. DOI: 10.1615/HydrobJ.v55.i3.50
38. Rajamanickam V., Muthuswamy N. Effect of metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Intern. J. Sci. Tech.* 2008. Vol. 2, N 1. P. 192—200.
39. Reddy A.N., Venugopal N.B., Reddy S.L. Effect of endosulfan 35 EC on ATPases in the tissues of a freshwater field crab *B. querini*. *Bull. Environ Contam. Toxicol.* 1992. Vol. 48. P. 216—220.
40. Trirumalavan R. Effect of cadmium on biochemical parameters in fresh water fish, *Oreochromis mossambicus*. *Asian J. Sci. Technol.* 2010. Vol. 5. P. 100—104.
41. Van der Oost R., Goksoyr A., Celander M. et al. Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). II Biomarkers: pollution-induced biochemical responses. *Aquat. Toxicol.* 1996. Vol. 36. P. 189—222.
42. Varadarajan R., Sankar H.H.S., Jose J., Philip B. Sublethal effects of phenolic compounds on biochemical, histological and ionoregulatory parameters in a tropical teleost fish *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Ecu. J. Sci. Res. Pub.* 2014. Vol. 4, N 3. P. 1—12.
43. Vatukuru S. Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian major carp. *Labeo rohita*. *International Journal of Environment Research Public Health*, 2005. Vol. 2. P. 456—462. DOI: 10.3390/ijerph2005030010

44. Yakushin V.M., Potrokhov A.S., Zinkovskiy O.G. et al. Bacteria numbers and proteolytic activity in the water of the lake located within the urban territory. *Hydrobiol. J.* 2015. Vol. 5, N 3. P. 77—86.

45. Yang B., Dou M., Hia R., Kuo Yi-M et al. Effects of hydrological alteration on fish population structure and habitat in river system: A case study in the mid-downstream of the Hanjiang River in China. *Global ecology and Conservation.* 2020. Vol 23. P. 1—22.

Надійшла 06.09. 2022

V.M. *Martseniuk*, PhD (Biol.), Junior Researcher,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Geroiv Stalingrada prosp., 12, Kyiv, 04210, Ukraine
wmarzenuk@gmail.com
ORCID 0000-0002-9998-0445

M.V. *Prychepa*, PhD, (Biol), Researcher,
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,
Geroiv Stalingrada prosp., 12, Kyiv, 04210, Ukraine
ORCID 0002-3114-2402

O.M. *Marenkov*, PhD (Biol.), Ass.Prof.,
Oles Honchar Dnipro National University
Gagarina prosp., 72, Dnipro, 49010, Ukraine
ORCID 0000-0002-3456-2496

CHANGES OF ACTIVITY OF ENERGY AND ION EXCHANGE ENZYMES, THE
CONTENT OF ENERGY SUBSTRATES IN THE TISSUES OF *PERCA FLUVIATILIS*
(LINNAEUS, 1758) AND *RUTILUS RUTILUS* (LINNAEUS, 1758) TISSUES UNDER
CONDITIONS OF TOXIC WATER POLLUTION

The effect of toxic pollution on changes in the activity of energy and ion exchange enzymes in gossip and perch tissues is considered. Significant changes in the content of energy substrates in the tissues of the liver, gills and muscles of perch and roach were established depending on the season and toxic load. It was shown that the amount of glycogen in the perch liver from the polluted lake (Kyrylivske) is lower than that of individuals from the control lake (Babinoe). Also, a lower activity of SDH in the tissues of the muscles and gossip gills has been established. Similar patterns were shown for perch. Gossip showed higher LDH activity in muscle tissues, which was indicative of the involvement of glycolysis. In turn, opposite changes in the activity of this enzyme were found in perch muscle tissue. It should be noted that gossip was characterized by greater variability in the activity of the studied enzymes. This indicates the species specificity of the metabolic reactions of the studied fish to counteract toxic pollution. It was found that in the tissues of perch gills, the activity of adenosine triphosphatase increased by 1.77—1.79 times. In contrast, gossip was found to have a decrease in activity. This confirms the thesis about interspecies differences in the regulation of metabolic processes in the event of a toxic effect on their body, as well as an increase or decrease in ion exchange. Reducing the activity of cytochrome oxidase in the tissues of the gills by 1.43—1.68 times. This indicates the inhibition of enzymatic systems that ensure the oxidation of substrates and electron transport. This leads to a decrease in energy generation and its use by cells. The results obtained make it possible to carry out monitoring studies of natural groups of native fish in order to identify potential pollutants, based on changes in the activity of energy metabolism enzymes.

Key words: fish, enzyme activity, toxic pollution, adaptive reactions, biomonitoring.