

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

КОВАЛЕНКО ЮЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК [597.556.331.1:57.017.7]: 574.5

ДИСЕРТАЦІЯ

**ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СТІЙКИХ
ПОПУЛЯЦІЙ КОРОПОВИХ РИБ ЗА ДІЇ ТОКСИЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ**

Спеціальність 091 «Біологія»

Галузь знань 09 «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Ю. О. Коваленко

Науковий керівник: Потрохов Олександр Спиридонович
доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Коваленко Ю. О. Фізіолого-біохімічні особливості формування нових стійких популяцій коропових риб за дії токсичного забруднення.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 «Біологія») – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2020.

У роботі наведені матеріали досліджень змін фізіолого-біохімічного стану деяких коропових видів риб за дії антропогенного забруднення водойм різного ступеню інтенсивності.

У результаті досліджень були встановлені міжвидові та міжпопуляційні відмінності морфо-фізіологічних та фізіолого-біохімічних показників риб, які сформувались внаслідок їх адаптації до дії тривалого або постійного надходження токсичних речовин у водойми. Це надає можливість короповим риbam підтримувати на належному рівні процеси життєдіяльності та зберегти їх здатність до відтворення.

Для кращого розуміння процесів природного добору коропових видів та їх фізіолого-біохімічних пристосувальних реакцій до впливу токсичних речовин були проведені гострі та хронічні токсикологічні експерименти з використанням референтних токсикантів у сублетальних та летальних концентраціях.

Експериментальні та натурні дослідження дали змогу встановити за фізіолого-біохімічними показниками особливості пристосування риб до дії токсичних речовин та підтвердити екологічний стан досліджених озер і якість води у них.

У токсикологічних експериментах об'єктами досліджень були гірчак європейський та амурський чебачок. Діючими токсичними речовинами були дихромат калію та фенол. Дихромат калію має загально токсичний вплив на риб та здатний накопичуватись у їх органах і тканинах. Фенол проявляє нервово-паралітичну дію та змінює структуру тканин передусім ті, що безпосередньо контактують із ним.

За впливу дихромату калію та фенолу загибель риб відбувається не одночасно. Вибірка гірчака розподіляється на різні групи особин за ступенем реагування на токсичний вплив. Значна частина риб гине одразу від стресових явищ (58,0–82,0 %), частина риб (30,3–6,0 %) гине через певний проміжок часу (від 8 до 11 діб) в міру можливого накопичення токсикантів у тканинах. Решта риб успішно адаптується до умов середовища та доживає до кінця дослідів (11,7–12,0 %). Гірчак на дію фенолу відреагував значно швидше, ніж на дію дихромату калію, що пояснюється різним хімічним впливом токсикантів на організм риб. Проте, порівняно з гірчаком, чебачок виявився менш стійким до впливу дихромату калію та фенолу, втім проходження пристосувальних реакцій у піддослідних риб була схожою. Таким чином, вивчені види риб здатні до адаптації на популяційному рівні до дії різноманітних токсичних речовин, зокрема і антропогенного походження.

Дихромат калію та фенол спричинили у риб стрес-реакції, які знайшли своє відображення передусім у збільшенні рівня глюкози та зменшенні вмісту кортизолу в плазмі крові. Також у риб встановлені зміни рівня тироксину, який коливається залежно від виду риб та екологічного стану дослідних озер Кирилівське та Лугове (системи «Опечень» м. Київ), в яких вони існували. Зміна гормонального фону риб відобразилась на активності низки ферментів та позначилась на обміні речовин та функціональному стані окремих органів риб.

Залежно від концентрацій токсикантів була встановлена висока активність ферментів азотного обміну, що вказує на активне залучення клітин печінки у процесах біотрансформації токсичних речовин з подальшою їх детоксикацією. У гірчака також збільшувалася активність лужної фосфатази (ЛФ), зокрема за дії дихромату калію, в усіх дослідних концентраціях (2,5–20,0 мг N/дм³) передусім в тканинах м'язів (у 1,1–5,1 разів). За впливу фенолу в усіх дослідних концентраціях (0,01–5,0 мг N/дм³) збільшилась активність ЛФ у клітинах м'язів (на 35,2–78,7 %), печінки (до 60,1 %) та зябер (на 14,6–52,0 %), що може вказувати на те, що для подолання негативного впливу токсичних речовин, у риб виникає необхідність залучати більшу кількість енергії.

Подальші дослідження стосувались проблеми закономірностей формування стійких груп карася до токсичного забруднення водойм високими концентраціями амонійного азоту ($24\text{--}48\text{ мг N/дм}^3$), у яких риби (віком 2^+) перебували різний проміжок часу – 3 місяці, 3 р та впродовж декількох поколінь (за тривалості забруднення водойми 20 р).

Досліджені групи карася мали суттєві відмінності від контрольних особин за біохімічними показниками. На початкових етапах пристосування (3 місяці) у дослідній групі риб за концентрації амонійного азоту 24 мг N/дм^3 активність ферментів енергетичного обміну істотно змінювалася. Так, у зябрових та м'язових клітинах активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) була меншою порівняно з контролем, проте активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) була більшою. Це вказує на активізацію аеробного дихання при зменшенні рівня гліколізу. Збільшується також обмін між зовнішнім і внутрішнім середовищем у зябрах риб, активність Na^+/K^+ аденозинтрифосфатази (Na^+ , K^+ -АТФ-ази) – зростає.

Після трирічної адаптації карася до амонійного забруднення в тканинах та органах риб відбувались зміни активності ферментів енергетичного обміну. Зокрема, збільшилась активність СДГ у тканинах м'язів на 38 %. У зябрах активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зменшувалася на 15 % відповідно, порівняно з контролем. Крім того, карась із цієї групи характеризувався більшим вмістом білка і глікогену в тканинах печінки та більшими індексами внутрішніх органів, ніж у контролі. До того ж, наслідки надмірного забруднення позначились на активності ферментів азотного та фосфорного обмінів.

Карась, який впродовж 20-ти років перебував у найбільш екстремальних умовах, сформував стійку популяцію, яка зберегла здатність до відтворення та підтримання своєї чисельності. Ця популяція риб характеризувалась меншим індексом печінки та більшим індексом селезінки. Це вказує на зміну функціональної активності цих органів. У риб депонується більша кількість кров'яних елементів у селезінці та активізується використання енергоємних речовин печінки. У карася, який тривалий час перебуває під токсичним навантаженням істотно змінюється активність ферментів енергетичного обміну

порівняно з іншими піддослідними групами та контролем. Так, активність ЛДГ і СДГ у тканинах печінки була значно вищою, як і активність амінотрансфераз та ЛФ відносно контролю. Це вказує на значну роль печінки у забезпеченні адаптивних реакцій до тривалого й надмірного впливу сполук азоту.

Крім того, у тканинах зябер цих риб була підвищена активність ЛДГ, що вказує на посилення процесів гліколізу, та активності глутаматдегідрогенази (ГДГ), яка задіяна у детоксикації та виведенні надмірної кількості амонію з організму. Порівняно з іншими піддослідними групами у карася після довготривалої адаптації до високої концентрації амонійного азоту ($48,0 \text{ мг N/дм}^3$) було встановлено нижчий рівень тироксину (Т4) при вищому рівні трийодтироніну (Т3) у плазмі крові, що свідчить про посилення загальних обмінних процесів.

Можна зауважити, що усі піддослідні групи характеризуються більшою абсолютною плодючістю, навіть за короткотермінового перебування у водоймі із високою концентрацією амонійного азоту. За тривалого перебування риб (3 та 20 рр.) під дією високих концентрацій амонійного азоту ($24,3\text{--}48,0 \text{ мг N/дм}^3$) у риб дещо зменшується лінійно-масовий ріст, що є наслідком адаптивно-компенсаторної реакції карася.

Дослідження популяцій окремих представників коропових риб у природних озерах, які розташовані у м. Києві, показали, що за умов посиленого впливу антропогенного забруднення (озера системи «Опечень» – оз. Кирилівське та Лугове) у карася сріблястого, краснопірки звичайної та плітки звичайної спостерігались міжвидові відмінності фізіолого-біохімічної адаптації до діючих чинників. Особливості зазначених реакцій полягали у змінах рівня гормонів у плазмі крові, специфічному використанні енергоємних речовин та змінах активності досліджуваних ферментів енергетичного (ЛДГ, СДГ), йонного (Na^+, K^+ -АТФ-аза), азотистого (АсАТ, АлАТ, ГДГ) та фосфорного (ЛФ) обмінів.

Можна стверджувати, що на відміну від краснопірки та плітки, карась має найбільшу стійкість та пристосувальну здатність до погіршення умов

навколишнього середовища. Передусім це пов'язано з фізіологічною специфікою забезпечення енергетичних потреб, адже карась, на відміну від краснопірки та плітки, насамперед використовує глікоген. Саме це дозволяє підтримувати чисельність популяції на оптимальному для неї рівні у складних умовах існування, що підтверджується результатами досліджень різних популяцій цього виду.

За посиленого антропогенного забруднення у досліджених видів риб спостерігалися істотні зміни індексів внутрішніх органів та зміни рівня гормонів. Зокрема, вміст ТЗ у карася з оз. Кирилівське та оз. Лугове був меншим у 4,7 та 1,5 рази відповідно, а у плітки з оз. Кирилівське – у 4 рази менше. Водночас у краснопірки з обох забруднених водойм вміст цього гормону був більшим у 2,2 рази відносно контролю.

Карась та краснопірка з оз. Кирилівське та Лугове характеризувались більшою активністю СДГ у тканинах м'язів (на 63,0 та 40,6 % і 13 та 50 %, відповідно), що вказує на збільшення аеробних окисно-відновних процесів при існуванні риб у забруднених водоймах. Зі свого боку, в плітки з оз. Кирилівське встановлено нижчу активність цього ферменту в тканинах м'язів (на 31,2 %).

Активність ЛДГ у тканинах м'язів, печінки та зябер плітки з оз. Кирилівське була нижчою від контролю. Проте в зябрових тканинах карася і краснопірки із надмірно забрудненої водойми активність ЛДГ була вищою за показники умовного контролю. Отримані результати активності низки ферментів вказують на особливості перебігу біохімічних реакцій досліджуваних видів за умов антропогенного забруднення водойм.

У всіх дослідних видів активність ферментів азотного обміну в клітинах печінки була переважно меншою, ніж у контролі. Це можна розглядати як адаптивну реакцію, яка дає змогу короповим риbam існувати у водоймах із різною інтенсивністю антропогенного забруднення.

Загалом, краснопірка та карась схожим чином реагують на вплив комплексного забруднення, адже у цих видів подібним чином змінюється активність маркерних ферментів у різних тканинах, порівняно з контролем. Зазначені особливості роблять ці види риб більш стійкими до впливу

забруднення, ніж плітку, яку нами не було виловлено у найзабрудненішій водоймі (оз. Лугове), що може вказувати на менші адаптивні можливості цього виду до впливу посиленого токсичного забруднення.

Отримані результати вказують на те, що за фізіолого-біохімічним станом риби можна оцінити екологічний стан водойм та передбачити наслідки надмірного антропогенного забруднення на стан іхтіофауни в мало порушених водоймах. Матеріали, викладені у дисертації, можуть використовуватися в навчальному процесі на факультетах природничого спрямування та на науково-популярних семінарах з метою популяризації наукових знань.

Ключові слова: токсичні сполуки, антропогенне навантаження, адаптація, риби, популяція риби, вміст гормонів, енергомісткі речовини, активність ферментів.

SUMMARY

Kovalenko Yu. O. Physiological and biochemical features of formation of new stable populations of carp fish under the influence of toxic pollution.

Thesis topic for the scientific degree of doctor of philosophy on specialty 091 «Biology» – Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2020.

The paper presents research materials on changes in the physiological and biochemical state of some carp fish species under the influence of anthropogenic pollution of varying degrees of water intensity.

As a result of research, interspecific and interpopulation differences of morpho-physiological and physiological-biochemical parameters of fish were established, which were formed as a result of long-term or constant inflow of toxic substances into water bodies. This enables carp fish to maintain their vital processes and ability to reproduce.

To better understand the processes of carp species selection and their adaptive responses to toxic substances, a number of acute and chronic experiments were

performed, which reflected the effect of reference toxic substances in sublethal and lethal concentrations.

Experimental and field studies have made it possible to establish the influence of toxic substances on fish organisms and to characterize the state of the ecological environment of lakes and the quality of water in them according to physiological and biochemical parameters.

In toxicological experiments, the objects of study were *Rhodeus sericeus* (Pallas, 1776) and *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846). The active toxic substances are potassium dichromate, which is able to be accumulated in the organs and tissues of fish, and phenol, which affects the nervous system and is able to structurally change tissues, especially those that are in direct contact with this substance.

Under the influence of potassium dichromate and phenol, fish mortality does not occur simultaneously. The sample of bitterling gourd is divided into different groups of individuals by degree response to toxic effects. A significant part of fish dies immediately because of stress (58.0-82.0 %), some fish (30.3-6.0 %) die after a certain period of time (from 8 to 11 days) as the accumulation of toxicants in the tissues, the rest of the fish successfully adapt to environmental conditions and survive to the end of the experiment (11.7–12.0 %). Mustard reacted to the action of phenol much faster than to potassium dichromate, due to the different chemical nature of toxicants. However, in comparison with bitterling gourd, stone moroko was less resistant to the effects of potassium dichromate and phenol, however, the course of adaptive reactions in experimental fish was similar. Thus, the studied fish species are able to adapt to reservoirs that are subject to pollutants, primarily of anthropogenic origin.

In addition, the studied reference toxicants caused stress reactions in fish, which were reflected primarily in an increase in glucose levels and a decrease in plasma cortisol. Fish also recorded changes in the level of thyroxine, which varies depending on the species of fish and the ecological status of the experimental lakes (Kyrylivske and Luhove), in which they existed. The change in the hormonal

background of fish was reflected in the activity of a number of enzymes and affected the metabolism and functional state of individual organs of fish.

Depending on the concentrations of toxicants, a high activity of nitrogen metabolism enzymes was found, which indicates the active involvement of liver cells in the processes of biotransformation of toxic substances with their subsequent detoxification. The activity of alkaline phosphatase (LF) also increased, in particular under the action of potassium dichromate in experimental concentrations (2.5–20.0 mg N / dm³) in bitterling gourd the activity of the enzyme in muscle tissues increased (by 1.1–5.1 times). Phenol in concentrations (0.01–5.0 mg N / dm³) activity increases in muscle cells (by 35.2–78.7 %), liver (up to 60.1 %) and gills (by 14.6–52.0 %), which indicates the need to attract more energy from fish to overcome the negative effects of toxicants.

Further studies addressed the problem of patterns of formation of resistant groups of crucian carp to toxic pollution of water bodies with excessive concentrations of ammonium nitrogen (24–48 mg N / dm³) for 3 months, 3 years and 20 years. The studied groups of crucian carp had significant differences from control individuals in biochemical parameters. In the initial stages of adaptation (3 months), the activity of enzymes of energy metabolism changed significantly. Thus, in gill and muscle cells, lactate dehydrogenase (LDH) activity was lower than in controls, but LDH activity increased. This indicates the activation of aerobic respiration with decreasing glycolysis. The exchange between the external and internal environment in the gills of fish also increases, the activity of Na⁺, K⁺- adenosine triphosphatase (Na⁺, K⁺-ATPase) increases.

After three years of adaptation of crucian carp to ammonium contamination in the tissues and organs of fish there were changes in the activity of enzymes of energy metabolism. In particular, the activity of LDH in muscle tissue increased by 38 %. In the gills, the activity of Na⁺, K⁺-ATPase decreased by 15%, respectively, compared with the control. In addition, crucian carp from this group was characterized by a higher content of protein and glycogen in the liver tissues and higher indices of internal organs than in the control. In addition, the effects of excessive pollution affected the activity of enzymes of nitrogen and phosphorus metabolism.

The crucian, which has been in the most extreme conditions for 20 years, has formed a stable population that has retained the ability to reproduce and maintain its numbers. This fish population was characterized by a lower liver index and a higher spleen index. This indicates a change in the functional activity of these organs. Fish store more blood elements in the spleen and increase the use of energy-intensive substances in the liver. In crucian carp, which is under a toxic load for a long time, the activity of energy metabolism enzymes changes significantly compared to other experimental groups and controls. Thus, the activity of LDH and LDH in liver tissues was significantly higher, as well as the activity of aminotransferases and LF, relative to control individuals. This indicates a significant role of the liver in providing adaptive responses to prolonged and excessive exposure to nitrogen compounds.

In addition, in the gill tissues of these fish was increased LDH activity, which indicates an increase in glycolysis, and glutamate dehydrogenase (GDH) activity, which is involved in detoxification and removal of excess ammonium from the body. In comparison with other experimental groups in crucian carp after long-term adaptation to high concentrations of ammonium nitrogen (48.0 mg N / dm^3), a lower level of thyroxine (T4) was found at a higher level of triiodothyronin (T3) in blood plasma, which indicates an increase in overall metabolic processes.

It can be noted that all experimental groups are characterized by higher absolute fertility, even during a short stay in a reservoir with a high concentration of ammonium nitrogen. During a long stay (3 and 20 years) the linear mass growth of fish decreases slightly, which is a consequence of the adaptive-compensatory reaction of crucian carp under unsatisfactory living conditions.

Studies of populations of individual representatives of carp fish in natural lakes located in Kyiv showed that under conditions of increased impact of anthropogenic pollution (lakes of the "Opechen" system – Lake Kyrylivske and Luhove) in silver crucian carp, red-breasted and common goby were observed interspecific differences in physiological and biochemical adaptation to active factors. Peculiarities of these reactions were changes in the level of hormones in the blood plasma, specific use of energy-intensive substances and changes in the activity of the studied enzymes

energy (LDH, LDH) ion (Na^+ , K^+ -ATPase), nitrogen (AST, ALT, GDG) and phosphorus (LF) exchanges.

It can be argued that, unlike redbfin and roach, crucian carp have the greatest resilience and adaptability to environmental degradation. First of all, this is due to the physiological specifics of energy needs, because crucian carp, unlike redbfin and roach, primarily uses glycogen. This allows to maintain the population size at the optimal level for it, even in extremely difficult living conditions, which is confirmed by the results of studies of different populations of this species.

Significant changes in the indices of internal organs and changes in hormone levels were observed in the studied fish species during the increased anthropogenic pollution. In particular, the content of T3 in crucian carp from the lake Kyrylivske and lake. Lugove was smaller by 4.7 and 1.5 times, respectively, and roach from the lake Kyrylivske is 4 times less, but the content of this hormone was 2.2 times higher in the Krasnoperka from both polluted reservoirs relative to the control.

Crucian carp and redbfin from the lake Kyrylivske and Luhove were characterized by higher activity of LDH in muscle tissues (by 63.0 and 40.6 % and 13 and 50 %, respectively), which indicates an increase in aerobic redox processes in the presence of fish in contaminated water. In turn, roach from the lake Kyrylivske found a lower activity of this enzyme in muscle tissue (31.2 %).

LDH activity in the tissues of muscles, liver and gills of roach from the lake Kyrylivske was lower than control. However, in the gill tissues of crucian carp and red perch from excessively polluted water, LDH activity was higher than the conditions of conditional control. The results obtained from the activity of a number of enzymes indicate the diametrically opposite biochemical reaction of the studied species to the conditions of water pollution.

In all experimental species, the activity of nitrogen metabolism enzymes in liver cells was preferably lower than in the control. This can be considered as an adaptive response that allows carp fish to exist in reservoirs with different intensities of anthropogenic pollution.

In general, redbfin and crucian carp respond similarly to the effects of complex contamination, as these species similarly alter the activity of marker enzymes in

different tissues compared to controls. This is what makes these species more resistant to pollution than roach, which we did not catch in the most polluted reservoir (lake Lugove). This indicates less adaptive capacity of this species to the effects of increased toxic pollution.

Thus, the physiological and biochemical state of fish can assess the ecological status of water bodies and predict the effects of excessive anthropogenic pollution on the state of ichthyofauna in sparsely disturbed water bodies. The obtained materials of the dissertation can be used in the educational process at the faculties of natural sciences and at popular science seminars in order to popularize scientific knowledge.

Key words: toxic substances, anthropogenic impact, adaptation, fish, fish population, hormone content, energy-intensive substances, enzyme activity.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ,

в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Коваленко Ю. О., Примачев М. Т., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Деякі адаптивні реакції карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* (Bloch, 1782)) за надмірного навантаження амонійним азотом. *Рибогосподарська наука України*. 2018. Т. 44, № 2. С. 116–129.

Особистий внесок: відбір проб з іхтіологічного матеріалу та їх обробка, участь в узагальненні даних, підбір фахової літератури, написанні та оформленні статті.

2. Коваленко Ю. О., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Фізіолого-біохімічні особливості реакції гірчака звичайного за хронічної дії дихромату калію. *Наукові записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія*. 2018. Т. 74, № 3–4. С. 58–66.

Особистий внесок: проведення модельних експериментів, відбір та обробка проб, участь в узагальненні даних, підбір фахової літератури та написанні і оформленні статті.

3. Kovalenko Yu. O. Physiological and Biochemical Peculiarities of Crucian Carp Adaptation to Water Bodies Pollution by Ammonia Nitrogen. *Hydrobiological Journal*. 2019. Vol 55, № 3. С. 59–66.

4. Коваленко Ю. О., Шлапак О. О., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Вплив антропогенного забруднення на фізіолого-біохімічні показники риб та їх паразитоценозів. *Рибогосподарська наука України*. 2019. Т. 49, № 3. С. 72–88.

Особистий внесок: забір біологічного матеріалу, визначення проб, обрахування та статистична обробка результатів, узагальнення отриманих даних, підбір фахової літератури та написанні і оформленні статті.

5. Худіяш Ю. М., Причепа М. В., Потрохов О. С., Зінковський О. Г., Горбатюк Л. О., Коваленко Ю. О., Медовник Д. В. Вплив екологічних умов озер м. Києва на стан іхтіофауни. *Рибогосподарська наука України*. 2020. Т. 51. № 1. С. 28–43.

Особистий внесок: відбір проб для визначення хімічного складу води.

які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Коваленко Ю. О. Перспективи досліджень фізіолого-біохімічного стану популяцій коропових риб за тривалих змін навколишнього середовища в міських водоймах. *Біологічні дослідження – 2017*: мат. VIII Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю (Житомир, 14–16 березня 2017). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, 2017. С. 121–123.

7. Коваленко Ю. О. Хронічний вплив дихромату калію на вміст кортизолу та глюкози у плазмі крові гірчака звичайного *Rhodeus sericeus* (Pallas, 1776). *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: мат. IV Наук-практ. конф. молодих вчених* (Київ, 6–7 листопада 2017). Київ, Інститут гідробіології НАН України, 2017. С. 33–34.

8. Коваленко Ю. О. Вплив алохтонного азоту на активність амінотрансфераз та лужної фосфатази плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) *Біологічні дослідження – 2018. Збірник наукових праць* (Житомир, 27 лютого 2018). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, 2018. С. 122–123.

9. Коваленко Ю. О. Вплив фенолу на активність ферментів азотного та фосфорного обміну амурського чебачка. *Актуальні питання сьогодення. Матеріали міжнар. наук-практ. конф.* (Вінниця, 20 березня 2018). Вінниця, Т. 3. С. 12–15.

10. Коваленко Ю. О. Вплив фенолу на активність ферментів енергетичного та азотного обміну в м'язах молоді чебачка звичайного. *Водні екосистеми та збереження їх біорізноманіття. Мат. I Всеукр. наук-практ. конф.* (Житомир, 11–12 квітні 2018). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, С. 19–22.

11. Шлапак О. О., Коваленко Ю. О. Вплив забруднення водойм сполуками неорганічного азоту на фізіолого-біохімічні показники паразитоценозу карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* (Bloch, 1782)) *Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів. Мат. міжнар. наук-практ. конф.* (Київ, 15–17 травня 2018). Київ, 2018. С. 45–47.

Особистий внесок: участь у заборі біологічного матеріалу, визначенні проб, обрахуванні та статистичній обробці результатів, узагальнення отриманих даних, участь у написанні тез.

12. Коваленко Ю. О., Шлапак О. О. Особливості фізіолого-біохімічних характеристик коропових видів риб в умовах водойм урбанізованих територій та різного складу паразитоценозів. *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем Мат. V наук-прак конф. мол. вч. (Київ, 14–15 листопада 2018)*. Київ, С. 21–23.

Особистий внесок: участь у заборі тканин, визначенні проб, обрахуванні та статистичній обробці результатів, узагальнення отриманих даних, участь у оформленні та написанні тез.

13. Коваленко Ю. О. Вплив забруднення водойм на зміни активності ферментів азотистого обміну в карася сріблястого та краснопірки звичайної. *Перспективи гідробіологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів. Мат. VIII з'їзду Гідроекологічного товариства України присвячений 110-річчю заснування Дніпровської біологічної станції (Київ, 6–8 листопада 2019)*. Київ, 2019. С. 116–118.

14. Коваленко Ю. О. Зміна вмісту малонового діальдегіду та активності лужної фосфатази у тканинах карася сріблястого (*Carassius auratus* (Bloch, 1782)) за дії токсичного забруднення водойм. *Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів 2019 (Зоологічний кур'єр, № 13). (13–14 листопада 2019)*. Київ, 2019. С. 13–14.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	19
ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ	25
1.1. Джерела забруднення природних вод та їх вплив на гідробіонтів	26
1.2. Фізіологічні особливості риб в умовах антропогенного забруднення водного середовища	31
1.3. Нейрогуморальне регулювання адаптивних процесів риб за дії забруднювачів водного середовища	33
1.4. Роль енергоємних речовин у пристосувальних реакціях риб за дії несприятливих чинників водного середовища	35
1.5. Зміна активності ферментів у тканинах риб за дії антропогенного забруднення	38
Висновки до розділу 1	46
РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	48
2.1. Фізико-хімічна характеристика водних об'єктів	49
2.2. Методи гідрохімічних досліджень	53
2.3. Методика постановки модельних експериментів	53
2.4. Методи проведення фізіологічних досліджень	53
2.5. Методи проведення біохімічних досліджень	54
2.6. Методи статистичної обробки матеріалів	54
РОЗДІЛ 3 РЕЗИСТЕНТНІСТЬ РИБ ДО ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ ТА БІОХІМІЧНІ РЕАКЦІЇ РИБ НА ЇХ ДІЮ	59
3.1. Токсикорезистентність гірчака європейського та амурського чебачка до дії дихромату калію та фенолу	59
3.2. Вплив токсичних речовин на вміст енергоємних сполук у стійкої групи гірчака європейського та амурського чебачка	66

	17
3.3. Вплив дихромату калію та фенолу на вміст кортизолу, тироксину та глюкози у плазмі крові гірчака європейського	68
3.4. Вплив референтних токсикантів на активність ферментів енергетичного та фосфорного обмінів у риб	72
3.5. Вплив дихромату калію та фенолу на активність ферментів азотного обміну риб	79
Висновки до розділу 3	85
РОЗДІЛ 4 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО ДО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ АМОНІЙНИМ АЗОТОМ	88
4.1. Вплив амонійного азоту на вміст гормонів та глюкози у плазмі крові карася	92
4.2. Вміст білка, ліпідів та глікогену в органах та тканинах карася за впливу амонійного азоту	93
4.3. Активність основних ферментів енергетичного, йонного та фосфорного обмінів в тканинах карася за впливу сполук неорганічного азоту	96
Висновки до розділу 4	101
РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РИБ	105
5.1. Фізіологічні реакції корошових риб на надмірне антропогенне навантаження та його вплив на зміни абсолютної плодючості, вмісту енергомістких сполук у ікрі карася	106
5.2. Вплив антропогенного забруднення на індикаторні показники плазми крові риб	111
5.3. Вміст енергомістких сполук та малонового діальдегіду в органах та тканинах корошових видів риб за дії антропогенного навантаження	114
5.4. Активність основних ферментів енергетичного, фосфорного та азотного обмінів у корошових видів риб за дії антропогенного забруднення	118
5.4.1. Зміна активності СДГ та ЛДГ за впливу антропогенного забруднення	118
5.4.2. Вплив антропогенного забруднення на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази корошових видів риб	121
5.4.3. Вплив антропогенного забруднення на активність	

лужної фосфатази у корокових видів риб	122
5.4.4. Активність основних ферментів азотного обміну в корокових риб за дії надмірного антропогенного забруднення	123
Висновки до розділу 5	127
РОЗДІЛ 6. УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	130
ВИСНОВКИ	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	147

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

АлАТ – аланінамінотрансфераза

ГДГ – лутаматдегідрогеназа

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

ЛФ – лужна фосфатаза

СДГ – сукцинатдегідрогеназа

МДА – малоновий діальдегід

мг/г – міліграм на грам

мм – міліметр

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

нМ – наномоль

оз. – озеро

Т3 – трийодтиронін

Т4 – тироксин

хв. – хвилина

Na⁺/K⁺-АТФ-аза – Na⁺/K⁺ аденозинтрифосфатаза

рН – водневий показник

°С – градус Цельсія

ВСТУП

Актуальність теми. Стан прісноводних водойм на урбанізованих територіях, викликає серйозне занепокоєння через їх нераціональне використання та забруднення токсичними речовинами [1, 16, 108, 168], що підсилюється циклічними змінами клімату [137]. Це призводить до знищення біотопічного розмаїття, збіднення фауни і флори [133] у водоймах урбанізованих ділянок міста [108]. Забруднення зменшує самоочисну здатність водойм та рибних запасів, і тому все більша кількість видів тварин і рослин опиняються під загрозою зникнення. Антропогенне забруднення впливає й на малопорушені водойми [133], зокрема природно-заповідного фонду України.

При оцінці загального стану водойм риб часто використовують як об'єкт досліджень [105], оскільки їх життєдіяльність та відтворення істотно відрізняється залежно від екологічних умов. Довготривале забруднення водойм призводить до загибелі чутливих видів риб через нестачу кормових об'єктів або від прямого токсичного впливу. Разом з тим окремі види риб виробляють адаптивно-компенсаторні реакції, які дають їм змогу зайняти звільнені екологічні ніші та підтримувати чисельність своїх популяцій [105].

Стійкість до нетипових умов формується за рахунок природного добору та процесу пристосування, що супроводжується фізіолого-біохімічними змінами [2], зокрема у вмісті гормонів та активності ферментів, які є діагностичними маркерами забруднення води [78, 305]. Формування популяцій риб, резистентних до антропогенного порушення водних екосистем, відбувається завдяки морфо-фізіологічній та біохімічній мінливості окремих особин риб.

З огляду на це, актуальність проведеної роботи полягає в оцінці загального стану водойми за морфо-фізіологічними та фізіолого-біохімічними властивостями найбільш опірних особин коропових видів риб як основних представників іхтіофауни міста. Закономірності їх адаптації до несприятливих

чинників водойм нададуть підґрунтя для пошуку рішень з поліпшення санітарного стану природних водойм у межах міста.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України в межах держбюджетних тем: «Фізіолого-біохімічні та цитогенетичні механізми пристосування риб та безхребетних до несприятливих змін екологічних чинників» (№ держреєстрації 0113U001581), «Морфо-фізіологічні та біохімічні механізми пристосування риб до умов антропогенно-порушених водних екосистем» (№ держреєстрації 0118U003269).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є встановити основні закономірності фізіолого-біохімічної адаптації корокових риб при тривалому впливі токсичних речовин.

Поставлена мета була реалізована внаслідок вирішення таких завдань:

- З'ясувати морфо-фізіологічні наслідки тривалого токсичного навантаження на корокових риб;
- Оцінити дію токсикантів на фізіологічний статус риб за інтенсивністю дихання, індексами внутрішніх органів, розмірно-масовими показниками, абсолютною та індивідуальною плодючістю;
- Визначити вміст енергоємних речовин – глюкози, глікогену, загальних ліпідів та білків у тканинах риб за дії тривалого токсичного навантаження;
- Встановити рівень нейрогуморального регулювання адаптивних процесів у корокових риб до діючих чинників;
- Визначити зміни у активності ферментів енергетичного (ЛДГ, СДГ), йонного Na^+K^+ -АТФ-фаза), фосфорного (ЛФ) та азотного (АсАТ, АлАТ, ГДГ) обмінів у відповідь на вплив тривалого токсичного забруднення;
- Встановити ступінь дії антропогенних чинників на фізіологічний стан риб за показниками перекисного окиснення ліпідів ПОЛ.

- Дослідити особливості пристосування риб та межі їх адаптивних можливостей до значного та тривалого токсичного навантаження.

Об'єкт дослідження – фізіолого-біохімічні закономірності адаптації корошових риб до антропогенного забруднення води та особливості формування резистентної до діючих чинників популяції риб.

Предмет дослідження – пристосувальні реакції карася сріблястого (*Carassius auratus* L.), плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) та краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* L.) до тривалого забруднення водного середовища.

Методи дослідження – іхтіологічні, токсикологічні, біохімічні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Отримані нові дані щодо закономірностей формування резистентних популяцій корошових риб за впливу антропогенного навантаження. Вперше показано, що на протидію антропогенному порушенню водойм різні види риб залучають різні адаптивно-компенсаторні механізми. Особливу роль у цьому відіграють зміни рівня гормонів та ферментативного регулювання обмінних процесів. Вперше встановлені особливості фізіолого-біохімічної адаптації представників корошових риб із озер, що розташовані на урбанізованих територіях м. Києва. Показано, що плітка, порівняно з карасем та краснопіркою, є видом, найменш пластичним до дії антропогенних чинників. Розширено уявлення щодо особливостей фізіолого-біохімічного функціонування адаптивних стратегій риб (на прикладі карася сріблястого) та щодо закономірностей формування їх стійких популяцій за тривалого антропогенного забруднення.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновано фізіолого-біохімічні показники корошових риб за якими можна оцінити ступінь негативної дії антропогенних чинників середовища. Результати дисертаційної роботи можна застосовувати при прогнозуванні чисельності та видового складу іхтіофауни урбанізованих водойм, що зазнають забруднення різної інтенсивності. За показниками вмісту гормонів у крові та за активністю ферментів енергетичного обміну можна проводити нормування скидів стічних

вод задля збереження популяційного різноманіття риб. Фізіолого-біохімічні показники риб можуть бути використані для біоіндикації та моніторингу водойм.

Одержані результати свідчать, що морфо-фізіологічні та біохімічні показники корошових риб можна використовувати для біомоніторингу забруднення водойм та водотоків. При цьому найбільш доцільно застосовувати такі показники, як вміст деяких гормонів у плазмі крові риб та вміст продуктів ПОЛ у печінці та м'язах. Саме вони свідчать про наявність чи відсутність стрес-реакцій у риб на умови оточуючого водного середовища та ступінь пристосованості риб до дії антропогенних чинників. Визначення фізіолого-біохімічних показників риб може бути доповненням до вже існуючих методів оцінки якості води. Результати досліджень вказують, що необхідно враховувати біохімічну відповідь риб при нормуванні скидів забруднених вод.

Основні результати дисертації можуть використовуватися при викладанні навчальних дисциплін «Водна токсикологія», «Екологічна фізіологія і біохімія», «Експериментальна екологія», «Екологічний моніторинг» у ВНЗ: для студентів природничих спеціальностей.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертації особисто розроблено програму та методологію досліджень, опрацьовано літературні джерела з питань обраної проблеми, виконано експериментальні роботи. Друковані праці підготовлено безпосередньо автором, при спільному виконанні експериментів зі співробітниками відділу біології відтворення риб Інституту гідробіології НАН України. Співвиконавці наводяться як співавтори відповідних публікацій. Автором самостійно проведено аналіз та узагальнення первинного матеріалу, сформульовано основні положення та висновки роботи, а аналіз окремих положень та написання плану викладення матеріалу в дисертації виконано разом із науковим керівником.

Апробація результатів роботи. Основні результати, наведені в дисертації, доповідалися на 9 конференціях: VIII Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Біологічні дослідження – 2017» (Житомир, 2017); IV Науково-практична конференція молодих вчених

«Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2017); «Біологічні дослідження: Збірник наукових праць» (Житомир, 2018); I Всеукраїнська науково-практична конференція «Водні екосистеми та збереження їх біорізноманіття» (Житомир, 2018); V науково-практична конференція молодих вчених «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2018); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів» (Київ, 2018); Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання сьогодення» (Вінниця, 2018); VIII з'їзд Гідроекологічного товариства України (Київ, 2019); 40-ва Ювілейна конференція молодих дослідників-зоологів (Київ, 2019).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 14 – наукових праць, з яких 5 – у фахових виданнях, 9 – у матеріалах і тезах конференцій та інших наукових заходів.

Структура та обсяг роботи. Дисертаційну роботу викладено на 146 сторінках друкованого тексту. Вона складається із анотації, вступу, аналітичного огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 4 розділи власних досліджень з обговоренням і узагальненням одержаних результатів, висновків і списку використаної фахової літератури. Текст ілюстровано 52 рисунками і 5 таблицями. Список використаної фахової літератури містить 346 джерел із них 174 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ.

Згідно з даними ООН близько 80 % всіх стічних вод у світі скидаються у навколишнє середовище (Всесвітня програма оцінки водних ресурсів ООН 2017 р.) [269]. В Україні та, зокрема, у Київській області загальна екологічна ситуація характеризується високим ступенем техногенного забруднення [145] нафтопродуктами, СПАР, важкими металами, фенолами, пестицидами та іншими токсикантами [108, 129, 219, 270].

Найчастіше джерелами забруднення міських водойм стають промислові скиди, стічні води з житлових районів, автострад, кооперативів, автомийки та ін., що несуть у собі сполуки різної хімічної природи [327], зокрема СПАР, які є у складі синтетичних миючих засобів [79, 86, 108]. Надходження СПАР у значних концентраціях може призводити до утворення стійкої плівки і модифікації фізико-хімічних властивостей водойм [79, 143, 149, 211, 294].

Як один із прикладів забруднення водойм можна навести ті, що представлено в результатах багаторічних досліджень води із ставків дендропарку «Олександрія» (1995, 2003–2004 рр. та 2015 р.), які підлягають тривалій дії високих концентрацій неорганічних сполук, зокрема амонійного азоту, хлоридів, органічних сполук, мають високу мінералізацію води, дефіцит розчиненого кисню та відносно низьку концентрацію фосфору і сульфатів. Це призводить до істотного впливу на біоту цих ставків, що відобразилось у видовому складі гідробіонтів, зокрема угруповань фітопланктону [315].

Приклади локального впливу токсичних речовин на природні екосистеми важливі для вирішення глобальних проблем, оскільки «Індекс Живोї планети», який відстежує чисельність понад 14 000 популяцій 3706 видів хребетних, показує, що в період між 1970 та 2012 рр. відбулося зниження чисельності цих видів на 58 %. Значна частина видів – прісноводні тварини (88 %) [338]. З огляду на це, є гостра необхідність у моніторингу якості води прісноводних водойм, особливо озер з невеликими обсягами води,

які найбільш вразливі до токсичного забруднення [190, 228, 232, 249]. Таких озер в Україні налічується близько 20 тис. [57].

У цьому контексті методи екологічного моніторингу (фізіолого-біохімічного стану гідробіонтів) були розроблені для забезпечення достовірної оцінки якості навколишнього середовища [199, 259, 311]. Негативні чинники зовнішнього середовища зазвичай викликають у гідробіонтів суттєві зміни у функціонуванні життєво важливих фізіологічних процесів, які супроводжуються збільшенням використання розчиненого у воді кисню та більшою кількістю аміаку, що виробляється в процесі розкладу органічних сполук азоту [219]. В кінцевому підсумку такі процеси викликають у гідробіонтів токсичний стрес [9, 104], який призводить до заміщення нестійких груп організмів резистентними видами [225], які можуть пристосуватись до змінених умов існування та зберегти здатність до відтворення [233]. Це наголошує на тому, що риби здатні виробляти специфічні адаптивні механізми [246, 342, 344] на фізіолого-біохімічному рівні, які необхідні для забезпечення процесів нормальної життєдіяльності [209].

Важливим є те, що у кожного виду існують свої межі адаптивних можливостей, і в разі, якщо гідробіонти не здатні перебудувати метаболічні процеси, вони звужують межі ареалу або зникають зовсім.

З огляду на це, дослідження адаптаційних механізмів риб на фізіолого-біохімічному рівні за тривалої дії антропогенних чинників є актуальною проблемою сьогодення.

1.1. Джерела забруднення природних вод та їх вплив на гідробіонтів.

Нафта і нафтопродукти найбільш поширені токсиканти водного середовища [139], їх характерною особливістю є те, що ці речовини повільно руйнуються у природних умовах, іноді змінюють хімічну форму та поступово накопичуються в різних компонентах екосистеми [251]. У воді нафтопродукти сприяють фізико-хімічним перетворенням, наприклад:

плівковий ефект (1 дм^3 нафти при розливі на 1 га формує плівку завтовшки $0,10\text{--}0,01 \text{ мм}$) [144]. Нафтопродукти можуть піддаватися процесам: асиміляції організмами, повторній седиментації, емульгуванню, утворенню нафтових агрегатів, окисленню, розчиненню та випаровуванню [22]. Таким чином, нафта та нафтопродукти здатні викликати біодеградацію водойми.

Нафта негативно позначається на метаболізмі риб, пригнічуючи активність різних за локалізацією ферментів, які здійснюють гідроліз білкових і вуглеводних компонентів їжі, що призводить до зростання вмісту загального білка [76]. Водорозчинні поліциклічні вуглеводні накопичуються в печінці риб, діють на серце, змінюючи в риб темп дихання, викликають збільшення розмірів печінки, уповільнення темпу росту та впливають на загальну поведінку риб [100, 251]. До того ж, нафта знищує комах на різних стадіях розвитку, які слугують кормом для риб [87].

У незабруднених нафтопродуктами озерах та річках, вміст цих сполук може становити від $0,01$ до $0,20 \text{ мг/дм}^3$, інколи досягаючи $1\text{--}1,5 \text{ мг/дм}^3$. Референтні значення токсиканту (нафтопродуктів) у водоймах рибогосподарського призначення – $0,05 \text{ мг/дм}^3$ [87].

Згідно з даними Європейської екологічної комісії ООН до числа важких металів (ВМ) належать: Hg, Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Co, Cr та As [27; 159]. Джерелами надходження ВМ у водойми, насамперед є металургія, виробництво енергії, вантажний транспорт, використання речовин та хімікатів, корозія технічних будівель, гірничі розробки та складування відходів. ВМ потрапляють у навколишнє середовище переважно через пил та його відкладення на ґрунті [54, 94, 124, 144, 276].

Важкі метали (ВМ). Низкою авторів були проведені дослідження впливу токсичного забруднення поверхневих вод України на місцеву іхтіофауну і показано, що за вмістом іонів свинцю в рибі понад 15% водойм перевищують допустимі норми [11, 126]. Основна кількість іонів ВМ потрапляє до організму риб через зябра (до 70 %), дещо менша через шкіру (до 20%), а решта через органи травлення, зокрема кишківник [129, 309].

Акумуляція ВМ в організмі риб може спричиняти значні порушення клітинного метаболізму [28, 34, 52], спричиняючи оксидативне пошкодження білків і нуклеїнових кислот [7].

Ступінь накопичення ВМ в організмах риб залежить від водного об'єкта, функціонального стану організму, сезону та статі риб [46, 94, 144, 145].

ВМ впливають практично на всі системи організму, здійснюючи токсичну, канцерогенну, гонадотропну та мутагенну дії [27, 145, 147, 155, 275]. Наприклад, вплив кадмію призводить до ураження нирок, провокуючи утворення некрозів у тканинах, та здатен відображатись на ліпідному обміні й провокувати оксидативний стрес [11, 98, 140]. Наслідком цього може бути затримка росту та розвитку риб [40].

Зі свого боку, гострий вплив свинцю спричиняє крововиливи у травному тракті риб, анемію, ураження клітин печінки та нирок [40], руйнує периферичні нерви та головний мозок, а це як наслідок призводить до порушення поведінкових реакцій [91, 167].

Біогенні елементи. Відомо, що в разі незбалансованого використання мінеральних добрив у сільському господарстві, через скиди промислових та комунальних відходів може підвищуватись вміст сполук азоту та фосфору у водоймах. Унаслідок цього посилюються процеси евтрофікації водойм, особливо у літній період [150, 192]. Такі явища можуть призводити до розбалансування продукційно-деструкційних процесів у водоймі [10], насамперед у водоймах з низьким рівнем водообміну (озера та водосховища).

У результаті порушення екологічної рівноваги (зміни видового складу альгофлори, зростання щільності популяцій мікотрофних видів тощо) відбувається вторинне забруднення водойм продуктами життєдіяльності гідробіонтів та їх відмерлими рештками [44]. Розкладання цих решток призводить до зниження вмісту кисню у воді та підвищення вмісту сірководню, збільшення концентрації аміака, особливо за низької чисельності детритофагів [20, 75, 135]. Зазначені процеси можуть спровокувати отруєння риб від комплексу діючих факторів [75, 192]. Це також може знайти своє

відображення у порушенні процесів росту, розвитку, розмноження та позначитись на загальній здатності риб до виживання [196].

В окремих випадках нітритний азот може надходити до організму риб [243] та накопичуватись у шлунково-кишковому тракті після чого потрапити в русло крові. Це впливає на зміни вмісту гемоглобіну, що, зі свого боку, може стати причиною летальних наслідків [274].

Аміак та йони амонію здатні вільно проникати з навколишнього середовища в організм риб та накопичуватись у ньому [41, 77, 274, 301, 338] – це може стати причиною отруєння риб [202]. Механізм впливу аміаку полягає у локальному ураженні зябрового епітелію, внаслідок чого в риб порушуються процеси дихання, одночасно відбувається гемоліз еритроцитів.

У концентрації від 0,2 мг/дм³ до 1,0 мг/ дм³ аміак уражає нервово-мускулярний апарат [326], а через кілька годин або днів (залежно від витривалості виду) він призводить до летальних випадків для більшості видів риб [31].

Сполуки азоту надходять до організму через зябровий апарат та кишківник риб, пошкоджуючи їх епітеліальний шар. Крім того, вони здатні негативно впливати на інші внутрішні органи, зокрема печінку, нирки та селезінку риб. У подальшому це може призвести до порушення обмінних процесів, які можуть відобразитись на нейрогуморальній регуляції метаболізму та ферментативній активності, змінюючи вміст енергоємних сполук. Це може вплинути на виживання риб, на якість та кількість статевих клітин, а отже і на видовому різноманітті іхтіофауни [118]. Зі свого боку, під впливом фосфору фосфатів у риб знижується активності окисних процесів у організмі риб – інгібування сукцинатдегідрогенази у печінці та залозистому апараті зябер риб [133].

Феноли відносяться до найбільш розповсюджених поллютантів водних екосистем поряд із нафтопродуктами та важкими металами, вони здатні змінювати вміст біогенних сполук та розчинених газів (кисню, вуглекислого газу) у воді [149]. Феноли здатні до посилення своєї дії при коливанні рН

середовища як у кислу, так і лужну сторони [87]. Вони не мають кумулятивного ефекту [232].

Токсична дія сполук фенолів на організм риб проявляється у порушенні біосинтезу білків, бар'єрних функцій мембран та ін., що позначається на процесах рівноваги, дихання, рухової активності, у риб він викликає занепокоєння, а згодом судоми та смерть [14, 86, 151, 224, 329, 330]. Саме тому феноли відносять до токсикантів нервово-паралітичної дії [85, 328].

Низкою дослідників було вивчено адаптаційні можливості риб до дії фенолу та встановлено, що вже перше покоління риб було в кілька разів стійкішим до цього токсиканту, ніж вихідне. За три покоління резистентність до фенолу зростає у дослідній групі риб у 6,5 разів [162].

На противагу фенолу **сполуки хрому** мають кумулятивний ефект та здатні передаватись через трофічні ланцюги. Сполуки трьох- і шестивалентного хрому потрапляють до водойм у процесі розкладання організмів та рослин із ґрунтів. В значній кількості вони можуть надходити зі стічними водами, з фарбувальних цехів, текстильних підприємств, шкіряних заводів і підприємств хімічної промисловості [132].

Загалом хром має довгостроковий вплив на функціональний стан органів та тканин у різних видів риб на різних функціональних рівнях [313]. В риб цей токсикант може пошкодити зябровий епітелій, порушити осморегуляційну функцію, змінити кров'яний тиск тощо [306]. Токсичність хрому (VI) проявляється у високому окислювальному потенціалі та легкій здатності проникати через біологічні мембрани [14]. Хром має мутагенні та тератогенні властивості, адже його вплив на організм риб може спричинити істотні зміни у фізіологічних, гістологічних, біохімічних та генетичних показниках [313]. Разом з тим риби, які знаходяться під тривалим впливом хрому (VI) мають високу здатність до протидії зазначеному токсиканту [334].

Феноли та хром можуть знаходитись як у товщі води, так і у донних відкладах [72, 127].

Саме завдяки специфічним властивостям впливу фенолу та хрому на організм риб, їх часто використовують у токсикологічних дослідженнях як референтні токсиканти, проте останній у вигляді дихромату калію [127, 224].

1.2. Фізіологічні особливості риб в умовах антропогенного забруднення водного середовища.

За несприятливих екологічних умов, риbam необхідно здійснити низку пристосувальних перебудов у організмі задля виживання виду, внаслідок чого формуються нові резистентні популяції [160, 164, 212]. Тому дія токсичних речовин на організм риб передусім позначається на імунній, ендокринній та на центральній нервовій системі, спричиняючи широкий спектр функціональних розладів [104]. Згодом, внаслідок накопичення токсикантів у тканинах, відбуваються істотні зміни, які можуть спричинити в риб низку патологічних процесів [144], пов'язаних зі змінами структури клітин та тканин [42, 337].

Дослідження внутрішніх органів, зокрема печінки та селезінки дають змогу отримати об'єктивну інформацію, яка може бути критерієм визначення загального фізіологічного стану організму [186]. З урахуванням фізико-хімічних параметрів водного середовища, можна встановити наявність паталогій в організмі гідробіонтів [58].

Відомо, що печінка – важливий орган метаболізму [230]. Серед основних її функцій можна виділити процеси травлення та процеси білкового обміну (синтез та розпад). Розщеплення білків до амінокислот у подальшому підлягають розщепленню, з утворенням аміаку чи сечовини, або включаються у білково-синтетичні процеси [3, 90, 118].

Катаболізм білків може відбуватись і за надмірних потреб у енергетичних сполуках, зокрема при надмірному впливові токсичних сполук на тканини печінки, що характеризує посилення процесів детоксикації [200, 254]. Завдяки високій інтенсивності обмінних процесів печінка раніше за інші органи реагує на дію зовнішніх та внутрішніх несприятливих чинників [308]. Поряд з активними реакціями біосинтезу й катаболізму, в клітинах печінки

активно протікають процеси знешкодження та біоаккумуляції ксенобіотиків [88]. Це пов'язано з тим, що печінка депонує більшість токсичних речовин у концентраціях в десятки разів вищих за інші тканини [110]. Наприклад, у печінці карася сріблястого основна кількість цинку зменшується через 3 доби після введення металу в організм [165]. Такі процеси відбуваються завдяки ферментам антиоксидантної системи, що посилюють детоксикаційні процеси токсичних речовин [110]. Тому одним зі способів оцінки рівня забруднення водних екосистем є вимірювання біохімічних параметрів у тканинах печінки риб [142, 202].

Крім того, важливим для оцінки загального фізіологічного стану організму є індекс печінки, який певною мірою може вказувати на характер обміну речовин та наявність патологічних процесів [115]. Зміни індексів цього органу можуть позначитись на синтезі та розпаді білків та процесах взаємоперетворень амінокислот [42, 116].

Печінка, за токсичного впливу реагує однотипно – відбувається розвиток жирової дистрофії [179], судини переповнюються кров'ю, що супроводжується зниженням включень глікогену в гепатоцитах [13]. Також за впливу токсичних речовин у риб посилюються процеси фізіологічної регенерації та функціональної активності тканин печінки [111].

Зазначені зміни можуть використовуватись з метою діагностики загального санітарного стану водойми. Разом з тим варто брати до уваги те, що розміри внутрішніх органів можуть варіювати не лише через особливості місця перебування виду (інтенсивність та тривалість антропогенного забруднення), а й можуть залежати від віку, статі, метаболізму, наявності достатньої кількості корму, а також від його калорійності [39, 265].

Індекс селезінки, як і індекс печінки, здатен відображати загальний стан органу. Селезінка передусім відповідає за формування елементів крові та депо крові, що є важливим при існуванні риб у незадовільних умовах. Маса цього органу варіює у великих межах та залежить від зовнішніх факторів, зокрема, від концентрації розчиненого кисню у воді, а також від статі та фізіологічної активності конкретних видів риб [39].

Зябра – орган дихання, осморегуляції, екскреції [43] та своєрідні «ворота» крізь які до організму можуть надходити токсиканти, що можуть спричинити у деяких випадках викривлення та роздвоєння зябрових тичинок [33, 156]. Загалом зябра доволі чутливі до змін якості води [43, 197, 203], саме тому, їх часто використовують як біохімічні індикатори при оцінці загального стану оточуючого середовища за впливу антропогенного забруднення [197, 311].

Оскільки у репродуктивний період тканини м'язів та гонад складають основну масу тіла риб, то передусім саме в них можуть накопичуватись токсичні речовини, через що їх також часто розглядають як індикатори забруднення навколишнього середовища. Саме м'язи риб у найбільшій кількості містять білки. Крім того, вони характеризуються високою активністю низки ферментів [36].

1.3. Нейрогуморальне регулювання адаптивних процесів риб за дії забруднювачів водного середовища.

Гуморальна система здійснює постійну регуляцію метаболічних процесів в організмі, підтримує функції органів на необхідному для їх існування рівні [228, 287]. Токсичні речовини здатні викликати зміни вмісту гормонів, які можуть лишатись на високому рівні впродовж тривалого періоду (в окремих випадках – декілька місяців) на час дії стимулюючого чинника [182].

Одним з перших гормонів, що вказує на наявність стресу, є кортизол (кортикостероїдний гормон). Його кількість у крові характеризує активність нейро-гуморальної регуляції обмінних процесів.

Біологічна роль цього гормону полягає у формуванні захисних реакцій риб за впливу зовнішніх загроз та стресових ситуацій, що визначається як «стрес-реакція» – адаптивний механізм відновлення гомеостазу при несприятливих умовах існування [34, 50, 59, 121, 190, 194, 221]. Це відбувається шляхом активізації роботи м'язів, зниження витрат глюкози [310]

й посилення синтезу білків [50] через зміну активності метаболічних ферментів, таких як печінкові амінотрансферази [200].

Крім того, кортизол регулює вуглеводний обмін через заощадження наявних енергетичних ресурсів організму (пригнічує розпад) або відтворення втрачених через посилення синтезу глюкози [120].

Підвищений вміст кортизолу супроводжується різким збільшенням співвідношення тироксин/трийодтиронін (Т3/Т4) [194]. Відомо, що зазначені гормони в риб відіграють важливу роль у регуляції процесів обміну речовин, росту, розвитку, осморегуляції, стимулюють збільшення рівня статевих гормонів (тому вони необхідні для відтворення риб), стимулюють окиснювальні процеси та регулюють ліпідний обмін [91, 93, 120, 226]. Крім того, вміст та співвідношення зазначених гормонів істотно змінюється залежно від надходження токсичних речовин (наприклад свинцю) до тканин організму риб [39, 226], що впливає на процеси загального метаболізму, який позначається на адаптивних процесах.

Саме через це вміст вільного Т3 та Т4 – використовують для оцінки метаболічної активності в організмі риб [180, 284]. Варто зазначити, що Т4 має невелику біологічну активність, тоді як Т3, навпаки, має високу біологічну активність [341]. Проте Т4 відіграє роль своєрідного депо та може посилити обмін речовин через його конверсію у Т3. Близько 80% Т3 утворюється внаслідок дейодування Т4 у печінці та нирках, а 20 % у клітинах, що виконують функцію щитоподібної залози [245].

Під час стресу вміст кортизолу в крові збільшується, що призводить до інгібування Т4 – це може негативно позначитись на метаболізмі риб [221, 235]. Внаслідок цього, за повторної дії токсиканта на організм риб, відбувається пригнічення стрес-реакції, що виражається в порушенні процесів стероїдогенезу [330].

З огляду на це, важливо знати, за яким принципом відбуваються зміни в гормональній системі риб, яка впливає на перерозподіл енергоємних сполук за дії токсичних речовин, зокрема, в умовах надмірного антропогенного навантаження.

1.4. Роль енергоємних речовин у пристосувальних реакціях риб за дії несприятливих чинників водного середовища.

Запасання енергоємних речовин може варіювати залежно від сезону, виду, статі, віку, калорійності корму, вмісту кисню, температурного режиму та впливу токсикантів різної хімічної природи [291].

Білок є одним з основних компонентів і від його вмісту залежать темпи лінійного росту риб. За дії хронічного стресу в риб відбуваються суттєві зміни вмісту білків у тканинах м'язів. Це може відображатись на розмірно-масових показниках організму [216]. Крім того, у риб білки можуть використовуватись як альтернативні джерела енергії, які за нагальної необхідності (за участі амінотрансфераз) відіграють роль у процесах пристосування до дії негативних чинників оточуючого середовища [216]. Як правило зазначені явища відбуваються за значних потреб у енергетичному забезпеченні тканин організму при дії токсичного навантаження [236]. Важкі метали, потрапивши в організм гідробіонтів, здатні утворювати комплекс «білок-метал», порушуючи процеси утворення, транспорту та інших реакцій білків, що призводить до зміни їх вмісту в організмі риб [23] та до погіршення загального фізіологічного стану гідробіонтів [198].

Відомо, що вуглеводи є основним джерелом енергії у клітинах. Вміст ліпідів в органах та тканинах риб залежать від фізіологічного стану організму, а також від різних чинників водного середовища [56, 101] Рівень накопичення ліпідів перебуває в прямій залежності від вгодованості риб [38], а спрямованість ліпідного обміну змінюються залежно від етапу онтогенезу, статі та фази репродуктивного циклу [73]. Наприклад, вміст ліпідів у печінці самців та самиць відрізняється й залежить від стадії зрілості гонад [260].

Ліпіди є основою для всіх внутрішньоклітинних мембран, а також відіграють істотну роль у метаболізмі клітин [234]. Порушення гомеостазу організму завжди свідчить про наявність патології чи стресу [64; 261]. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у тканинах використовується як

інтегральний показник впливу умов середовища на фізіолого-біохімічний статус організму [118].

Роль ліпідів у формуванні пристосувальних можливостей риб до різних екологічних чинників свідчить про те, що сублетальні концентрації токсиканту у водному середовищі спричиняють зміни [59, 109] вмісту ліпідів, співвідношення їх окремих фракцій та жирнокислотного складу [261]. Спрямованість ліпідного обміну є складовою частиною комплексу неспецифічних реакцій у відповідь на будь-яку несприятливу дію. Зазначене явище є одним із проявів адаптивних реакцій у клітинному метаболізмі за умов стресу [167].

Загальний вміст ліпідів свідчить про активність анаболічних і катаболічних процесів та мобілізацію ліпідів як джерела енергії [234]. Адже ліпіди можуть використовуватись в адаптивних перебудовах структурних компонентів клітин, тканин та органів [117, 143]. Накопичення цієї сполуки відбувається, зокрема, у тканинах печінки [38]. Зменшення запасів ліпідів, або зміна співвідношення їх окремих компонентів викликають у риб глибокі порушення проникності клітинних мембран, деструктивні й функціональні зміни в їх органах та тканинах, що призводить до виснаження організму, зниження його резистентності та загибелі [56, 88], як, наприклад, це може відбутися під хронічним впливом іонів кадмію, які активують деструктивні процеси у ліпідному обміні та зниженні адаптивних можливостей риб [7, 82, 140, 325].

Глікоген – полісахарид, який виконує функцію збереження/запасання вуглеводів, передусім у тканинах печінки та м'язів [216]. Крім того, він є лабільною легкодоступною енергоємною сполукою, яка за нагальної необхідності (надходження токсичних речовин до тканин риб) може конвертуватись у глюкозу. Також глікоген є джерелом хімічної енергії та регулятором тиску крові [59].

Вміст глікогену в тканинах печінки риб може знижуватись під впливом забруднень або при дефіциті розчинного у воді кисню [152], викликаного значними витратами енергії для подолання стресу [138].

За несприятливих умов у тканинах риб відбуваються зміни в системах детоксикації та антиоксидантного захисту. Стимуляція механізмів детоксикації потребує додаткових енергетичних витрат [261], що зазвичай супроводжуються пригніченням енергетичного обміну [3, 117, 118]. Проте у кінцевому підсумку ефективна робота регуляторних та координуючих механізмів забезпечує адаптацію організму до мінливих умов його існування [59, 34].

Глюкоза – джерело енергії, головний вуглевод у крові, який утворюється в шлунково-кишковому тракті, звідки рухом крові переноситися до клітин організму. Глюкоза завжди перетворюється в глюкоза-6-фосфат та може бути використана для забезпечення власних потреб організму або конвертуватись у глікоген [91]. Це може відбуватись за тривалого впливу несприятливих умов, що супроводжуються процесами надмірного накопичення глікогену, для подальшого використання у вигляді глюкози за участі глюкози-6-фосфатази [92].

Глюкоза також є основним енергетичним субстратом для проходження метаболічних процесів в організмі риб за дії гострого стресу. Саме тому глюкоза одна з найбільш поширених діагностичних маркерів фізіологічного стану живих організмів [12, 59, 81, 235].

Варто зазначити, що глюкоза доволі мінлива, адже її кількість в крові сильно змінюється залежно від інтенсивності харчування, характеру обміну речовин, загального фізіологічного стану риб, наявності та тривалості дії шкідливих чинників зовнішнього середовища [12].

Глюкоза в крові риб перебуває під нейрогуморальним контролем ЦНС та у гепатопанкреасі, де розташовані детектори рівня глюкози [217]. За відхиленням вмісту глюкози від оптимального значення змінюється секреція гормонів, а також активність вегетативної нервової системи [317]. Нейрогуморальні сигнали надходять у різні органи, передусім у печінку, де посилюють або послаблюють процеси, що спрямовані на нормалізацію вмісту глюкози в крові [50]. Цей процес відбувається наступним чином: при зменшенні вмісту глюкози в крові – гіпоглікемії, виникає збудження нервових центрів та виділяються тропні гормони гіпофізу – (соматотропін,

адренокортикотропний гормон) [315], які активують вироблення гормонів, які впливають на активність ферментів. Це призводить до підвищення рівня вмісту глюкози в крові [59], що стимулюється інсуліном. За екстремальних умов, відбувається протилежна дія – глікогеноліз [14, 50, 317].

Високий вміст глюкози у крові, поєднаний зі зниженим вмістом глікогену в печінці, вказує на інтенсивність окисних процесів у тканинах [199, 213, 220]. Така реакція виникає при змінах зовнішнього середовища, через що відбувається мобілізація глікогену для задоволення зростаючих потреб тканин в глюкозі, що є цілком нормальним адаптивним процесом [220, 240]. У разі тривалого перебування організму в стані стресу – запаси глікогену виснажуються, що призводить до глікоглікемії [14].

Вміст енергоємних сполук в тканинах органів риб, зокрема печінки та м'язів, може як вказувати на загальний фізіологічний стан організму, так і давати можливість характеризувати умови існування риб на період досліджень. Зміна вмісту цих сполук відбувається за участі ферментів, що активують реакції, які потребують залучення більшої кількості енергії.

1.5. Зміна активності ферментів у тканинах риб за дії антропогенного забруднення.

В умовах антропогенного забруднення водойм у риб відбуваються суттєві зміни активності ферментів, що відображають перебіг біохімічних реакцій, спрямованих на посилення або послаблення процесів, пов'язаних з енергетичним забезпеченням клітин, внутрішніх органів та тканин. Одним з таких показників є зміни у активності ферментів енергетичного (СДГ, ЛДГ), йонного (Na^+ - K^+ -АТФ-аза), фосфорного (ЛФ) та азотного (АсАТ, АлАТ, ГДГ) обмінів. Саме за зміною активності зазначених ферментів можна характеризувати загальний стан організму риб, позаяк ферменти чутливо реагують на мінімальні зміни водного середовища та адекватно відображають загальну екологічну ситуацію водойм на період проведення досліджень [60; 207, 116, 280, 333]. Так, до прикладу, за хронічного впливу хрому в риб

відбуваються зміни активності ферментів, таких як сукцинатдегідрогеназа та лактатдегідрогеназа, у нирках, головному мозку, печінці, зябрах, кишківнику та м'язах *Channa punctatus* [313].

Розвиток механізмів пристосування може залежати від посилення енергетичного обміну в мітохондріях, що забезпечує біохімічні реакції, спрямовані на протидію отруйним речовинам за рахунок використання АТФ [346]. Відомо, що за несприятливих умов існування в клітинах збільшуються потреби в додатковому кисні. Внаслідок цього, щоб накопичити та виробити енергію, у риб відбувається переключення аеробного обміну на анаеробний, що «страхує» організм за критичних умов [18; 113].

Зміну активності ферментів азотного обміну часто використовують при проведенні біомоніторингових досліджень, спрямованих на оцінку та прогнозування екологічного стану водойм. АсАТ, АлАТ та ГДГ – найбільш активні у клітинах печінки риб. Це дає змогу оцінити функціональний стан цього органу [333]. Саме печінка найбільш активно реагує на надходження токсичних речовин в організм риб. Тому зміни активності ферментів є важливими при моніторингу антропогенного забруднення водного середовища.

Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) – мітохондріальний фермент класу оксиредуктаз [160] бере участь у каталітичних перетвореннях циклу лимонної кислоти [37] та є II комплексом дихального електронтранспортного ланцюга [204], каталізує окиснення сукцинату до фумарату та доставляє отримані електрони коферменту Q10. [109, 288]. На відміну від інших мітохондріальних респіраторних комплексів, СДГ бере участь як у електронному транспортному ланцюжку [279], так і у циклі трикарбонових кислот, займаючи ідеальне положення для мітохондріального метаболізму [288]. В разі надходження токсичних речовин в організм риб, СДГ змінює свою активність. Так, наприклад, за дії дизпалива значного ураження зазнають клітини печінки, про що свідчить зниження енергоресурсів (аденілатів), що також викликає зміни у активності СДГ та збільшення використання білка [99]. Зміни активності СДГ часто використовують як маркерний показник при діагностиці спрямованості

енергетичного обміну та при оцінці загального фізіологічного стану організму, зокрема, при токсичному впливі на організм риб.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ). Відомо, що за дії стресу відбувається викид гормонів у русло крові, що супроводжується посиленням серцебиття, підвищеними енергетичними витратами, від чого посилюється потреба у кисні [307]. За цих умов НАДН у дихальному ланцюзі не окислюється, але накопичується в мітохондріях та гальмує цикл Кребса [185, 284, 317]. Тому ацетил-КоА не входить у цикл трикарбонових кислот та пригнічує піруватдегідрогеназу [287], що призводить до накопичення його продукту – молочної кислоти [297].

В результаті зміщення реакції в сторону молочної кислоти відбувається зменшення вмісту піровиноградної кислоти, яка в подальшому могла б вступити в цикл трикарбонових кислот [20].

Зміна активності ЛДГ вказує на виникнення напруженого стану в організмі [290]. Пригнічення цього ферменту вважається, зокрема, ознакою нейротоксичності [238].

Найбільша активність ферменту ЛДГ спостерігається переважно в метаболічно-активних тканинах (печінки, нирок, серця, м'язів та в клітинах еритроцитів) [60].

Відомо, що ЛДГ зустрічається у вигляді п'яти різних лізоформ, які відрізняються між собою за тканинно-функціональною специфічністю [290].

Варто зазначити, що високою активністю ЛДГ характеризуються види риб, які мають більш високу рухливість або молодь риб, для якої характерний швидкий лінійний ріст, передусім у м'язовій тканині [317]. Зростання активності ЛДГ у плазмі крові є своєрідним індикатором наявності пошкоджень тканини, зокрема некрозу [282].

Зміна співвідношення СДГ/ЛДГ у напрямі збільшення активності ЛДГ та зменшення активності СДГ вказує на пригнічення аеробних окисно-відновних процесів анаеробними [20]. Зміна активності цих ферментів може вказувати на спрямованість вуглеводневого обміну залежно від тривалості антропогенного впливу, адже коливання активності одного із цих ферментів свідчить про

прискорення або послаблення циклу Кребса (СДГ) або гліколізу (ЛДГ) [264].

Проте, для більш точного розуміння проблем адаптації риб, необхідно додатково розглянути функціональне значення ферменту Na^+ , K^+ -активууючої, Mg -залежної АТФ-ази.

Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатаза – універсальний фермент, який забезпечує енергією низку біохімічних процесів [103, 108, 204]. Крім того, відіграє важливу роль при адаптації організму до умов, що змінюються [92, 256]. Na^+/K^+ -АТФаза – мембранний білок, який зв'язує обмін двох позаклітинних іонів K^+ на три внутрішньоклітинні Na^+ [298], тобто основна роль полягає у забезпеченні йонних електрохімічних зв'язків через плазматичну мембрану [264]. Фермент відіграє значну роль у генерації збудження та регуляції клітинного метаболізму, пов'язаного з йонними градієнтами [17]. Активність АТФ-ази може бути надійним індикатором енергетичного стану клітини та дозволяє дослідити взаємозв'язки між енергетичним обміном та діяльністю клітинних процесів, які потребують певної кількості АТФ. АТФ-аза змінює свою активність у відповідь на речовини, які викликають стрес, зокрема у риб [172, 181]. Ксенобіотики пошкоджують мітохондрії, тим самим порушуючи гомеостаз мітохондрій, внаслідок чого активність АТФ-ази змінюється [17, 172, 253, 255, 298, 346]. Крім того, на зміни в активності АТФ-ази можуть впливати кортизол, соматотропін та пролактин [278].

Активність АТФ-ази у зябрах часто розглядають як показник стану йонорегуляторної здатності [214], зокрема за дії комплексного забруднення водойм, змінюється активність зазначеного ферменту [215].

Зниження активності цього ферменту може призвести до порушення осморегуляторної функції зябер та нирок у риб [17]. Також відомо, що за дефіциту кисню у воді в клітинах мозку карася китайського (*Carassius auratus*) та у гепатоцитах форелі (*Oncorhynchus mykiss*) знижується активність АТФ-ази, що є пристосувальним механізмом, який спрямований на виживання особини завдяки зниженню енергетичного споживання АТФ [255].

З огляду на зазначене, зміна активності АТФ-ази є чутливим показником, що дає змогу виявити рівень іонного обміну в умовах різного ступеня забруднення водою.

Лужна фосфатаза (ЛФ) – чутливий фермент, зміна активності якого широко використовується у ветеринарних та іхтіологічних дослідженнях [257]. ЛФ відіграє важливу роль при адаптації тварин до різних чинників. Часто за показником зміни активності цього ферменту оцінюють ступінь ураження клітин печінки, адже він залучений у процеси детоксикації [134, 174].

ЛФ синтезується в печінці та жовчовивідних протоках [258], далі током крові розноситься по різних органах та тканинах. Тому ЛФ активна практично у всіх тканинах організму, особливо всередині клітинних мембран [175]. Вона також бере участь у мінералізації кісток у різних транспортних процесах, таких як перенесення фосфату та кальцію [277, 320].

У риб ЛФ відіграє роль у корегуванні метаболічних процесів [296], через що цей фермент має важливе значення в травленні та засвоєнні поживних речовин [320]. Крім того, шляхом дефосфорилювання енергоємних сполук ЛФ регулює рівень кальцію та кишкову абсорбцію ліпідів [258]. Тож ЛФ може впливати на пристосувальні процеси риб до змін в умовах існування, які позначаються на швидкості їх росту та розвитку [265].

Під впливом зовнішніх чинників клітини органів можуть зазнавати ураження, внаслідок чого ЛФ вивільняється в плазму крові. Підвищена активність цього ферменту вказує на наявність патологічних процесів у тканинах організму, зокрема печінки, нирок та кісток [310]. Через це зміну активності цього ферменту часто використовують як індикатор, який відображає ступінь інтоксикації організму токсичними речовинами [281].

Низка дослідників вирізняють і інші важливі функції ЛФ, наприклад, її роль у підтримці мікробіоти кишківника (імунної толерантності до мікробів) риб [183, 184, 265], проте активність цього ферменту варіює залежно від виду та типу дослідної тканини риб. Крім того, дослідники відзначають високу активність ЛФ у сполучній тканині, кровоносних судинах та багатошаровому

епітелії, який покриває порожнину рота та глотки риб. Разом з тим дослідниками зазначається, що найвища активність ЛФ у риб спостерігається в кишківнику та пілоричних каналцях [158, 323].

Крім того, високу активність ЛФ у тканинах окремих органів риб за несприятливих умов існування часто пов'язують із запальними процесами відповідних тканин [258] зокрема при холестатичній хворобі печінки та розладах кісткової системи, а також при захворюванні нирок, що зумовлено порушеннями в обміні вітаміну D та вторинним гіперпаратиреозом [257].

Важливою при діагностиці також є наявність кореляційних зв'язків між активністю ЛФ та вмістом ліпідів, глюкози, кальцію та неорганічного фосфору [323]. Крім того, співставлення активності ЛФ з ферментами, які виявляють найбільшу активність у клітинах печінки, зокрема амінотрансферази та ГДГ, дають змогу отримати ширшу картину загального фізіологічного стану риб.

Оскільки у печінці відбувається синтез та розпад білків [90], то за токсичного навантаження при надмірному попиті на енергоресурси у цьому органі збільшується вміст вільних амінокислот, які використовуються для отримання енергії (глюконеогенез) [218]. У результаті катаболізму білки гідролізуються до амінокислот із наступним їх дезамінуванням, що відбувається завдяки глютаміновій кислоті, яка бере участь у цій реакції [89]. В ці процеси залучені амінотрансферази та глютаматдегідрогеназа [292], які сприяють утворенню та надходженню окремих стратегічних сполук: кетоглутарат, піруват, оксалоацетат та глютамат, які необхідні для біосинтетичних та окиснювальних реакцій.

Амінотрансферази переносять азот на α -кетоглутарат, перетворюючи його у глютамат. Оскільки сечовина містить два атоми азоту, де використовується аміногрупою двох молекул глютамату. У результаті цього одна молекула прямо дезамінується глютаматдегідрогеназою з утворенням аміаку. Азот другої молекули глютамату шляхом переамінування переноситься на оксалоацетат із перетворенням його в аспартат [97].

Варто зазначити, що активність процесів дезамінування зумовлювалася насамперед рівнем продукування ендогенного аміаку, а отже інтенсивністю

катаболізму білків як енергоємної сполуки [118]. Зміни в активності амінотрансфераз вказують на спрямованість синтезу та катаболізму білка у риб [90; 200]. Відомо, що у риб інтенсивність рівня дезамінування амінокислот адекватно відображає рівень енергетичних процесів та загальну активність метаболізму [118].

Тому ферменти аспартатамінотрансфераза (АсАТ), аланінамінотрансфераза (АлАТ) та глутаматдегідрогеназа (ГДГ), зазвичай розглядають як показники інтенсивності використання амінокислот [311].

АсАТ та АлАТ схожі між собою за своєю дією, проте АлАТ локалізується в цитоплазмі, а АсАТ – у мітохондріях [35, 134]. Зміни активності амінотрансфераз вказують на зміну в функціонуванні тканин печінки, нирок та пов'язуються із руйнуванням їх клітин, зокрема внаслідок некрозу [210, 330] і характеризуються зниженням активності ферменту [118]. Значне зниження активності цього ферменту також вказує на можливе ураження гепатоцитів [249].

Найвища активність *аспартатамінотрансферази* спостерігається в гепатоцитах (80% активності, порівняно із іншими тканинами) [85; 185], що може вказувати на пошкодження клітин печінки [272]. Разом з тим варто брати до уваги, що при захворюванні печінки АсАТ підвищується меншою мірою, ніж АлАТ, найвища активність АсАТ в серці, печінці та скелетних м'язах [175, 296, 302].

Аланінамінотрансфераза каталізує оборотну трансамінацію аланіна до пірувату [185, 216, 312]. Загальновідомо, що цей фермент переважно перебуває у печінці із незначною його кількістю у інших органах. Вивільнення АлАТ відбувається при порушенні внутрішньої структури гепатоцитів та підвищенні проникності клітин мембран. АлАТ вважають індикаторним ферментом порушень функцій печінки будь-якої природи [210, 251]. З огляду на це, зміна активності цього ферменту характеризує пошкодження клітин печінки внаслідок токсичної дії на її гепатоцити [175]. Крім того, підвищена активність АлАТ не тільки спостерігається при пошкодженні мембран гепатоцитів, а й вказує на збільшення їх проникності [210].

Важливим показником при діагностичній оцінці є поєднання обох видів ферментів – АсАт та АлАТ, що розглядають як маркерний індекс використання білка [155, 312].

Збільшення активності АсАТ при невисокій активності АлАТ – механізм, який організм використовує при посиленні або послабленні тих чи інших процесів метаболізму, тим самим адаптуючись до несприятливих умов [302].

Значне зниження активності амінотрансфераз вказує на те, що метаболізм білка недостатній для підвищення рівня амінокислот, що позначається на ферментативній активності та фізіологічному стані досліджуваних риб за дії токсичних агентів [262]. Так, наприклад вміст сирової нафти (в концентраціях від 0,25 до 1,5 мг/дм³) у воді інгібує переамінування амінокислот АлАТ та АсАТ у печінці, зябрах та м'язах риб [99], а за підвищених концентрацій ацетату свинцю, навпаки, відбувається зростання активності ферментів АсАТ та АлАТ, що свідчить про значну ендогенну інтоксикацію риб [54, 126].

Співвідношення коефіцієнта де Рітіса (АсАТ/АлАТ) дає можливість оцінити характер та ступінь пошкодження клітин печінки [191]. Підвищення активності АсАт та АлАТ, поряд зі зниженим коефіцієнтом де Рітіса, підтверджують ушкодження гепатоцитів, пов'язане з розвитком апоптозу або некрозу, у результаті ці ферменти вивільняються з клітин печінки в русло крові [262, 266, 273], активність яких відображає зміни між кількістю загиблених гепатоцитів та активністю вказаних ферментів у плазмі крові [172]. Тому активність трансаміназ використовують для визначення ступеня пошкодження тканин в таких органах, як печінка [247].

Глутаматдегідрогеназа – мітохондріальний фермент, найбільш важливий у метаболізмі амінокислот. Відіграє роль у регулюванні клітинного метаболізму, відокремлюючи азот від глутамату [178, 187], у присутності NAD^+ в циклі Кребса. Глутамат постачає азот у всі тканини організму [206, 312].

За дії токсичних речовин у тканинах риб зростає утворення аміаку, що викликає необхідність його знешкодження та виведення з організму. Це відбувається завдяки глутамату, який зв'язує аміак, утворюючи нетоксичний глутамін. Останній транспортується з током крові до зябер, через які

виводиться з організму риб [80]. Зміна активності функціонування глутаматдегідрогеназної системи забезпечує низку пристосувань в організмі риб до дії токсикантів водного середовища [3]. Через це активність ГДГ можна використовувати як маркерний показник метаболізму поживних речовин, як регулятор утилізації білка та/або ескреції аміаку [280]. Фермент ГДГ характеризується високою активністю у мітохондріях клітин печінки, серця, м'язів та нирок [178, 263].

Таким чином, ферменти АсАТ, АлАТ та ГДГ вважаються чутливими індикаторами стресу [249], а підвищення їх активності забезпечує задоволення зростаючого попиту в енергоресурсах за дії надмірного токсичного навантаження на організм риб [280]. За активністю цих ферментів можна прослідковувати зміни спрямованості білкового обміну в умовах несприятливого середовища існування, а їх активність відображає фізіологічний стан організму за дії антропогенного навантаження. Вивчення активності ферментів азотного та фосфорного обміну, а саме, визначення активності амінотрансфераз, глутаматдегідрогенази та ферментів з ширшим спектром дії, зокрема лужної фосфатази, дає можливість дослідити пристосування риб до токсичного навантаження на фізіолого-біохімічному рівні [102].

Висновки до розділу 1

Аналіз літературних джерел наочно демонструє, що проблема забруднення водного середовища є актуальною для більшості країн світу і супроводжується зниженням видового різноманіття та чисельності гідробіонтів. Разом з тим стійкі популяції, що сформувались внаслідок тривалого перебування у забрудненому середовищі виробили низку пристосувальних реакцій у відповідь на дію згубних чинників. У таких риб спостерігаються зміни зокрема у накопиченні енергомістких сполук, нейрогуморальній регуляції та ферментативній активності. Це неодмінно позначається на обміні речовин,

фізіологічному стані внутрішніх органів, репродуктивній системі, темпах росту та тривалості життя риб загалом.

Для оцінки ступеню антропогенного навантаження в різних країнах світу впроваджуються методи біотестування з використанням таких маркерів як активність ферментів та вміст гормонів у різних видів гідробіонтів, які дають змогу оцінити загальний стан організму на період проведення досліджень.

Разом з тим, більшість сучасних іхтіологічних досліджень в Україні присвячені в основному вивченню впливу токсичних сполук на організм риб у штучних умовах. Зогляду на це існує певна необхідність у проведенні досліджень впливу антропогенного забруднення на фізіологічний стан окремих представників іхтіофауни природних водойм, задля дослідження закономірностей пристовувальних процесів у риб, що існують в антропогенно-навантажаних водоймах. Такі дослідження дають змогу прогнозувати зміни чисельності та видового склау риб в разі збільшення токсичного навантаження на водойми та попереджати їх негативні наслідки.

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гострі та хронічні токсикологічні дослідження були проведені на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України у липні 2017 р. Піддослідними тест-об'єктами були гірчак європейський (*Rhodeus sericeus* (Pallas, 1776)) та амурський чебачок (*Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846)). Вказані види були обрані завдяки широкому розповсюдженню у різних водоймах та невеликим розмірам статевозрілих особин, що робить зазначені види зручними об'єктами для проведення хронічних токсикологічних досліджень.

У продовження модельним експериментам по формуванню стійких до токсичного забруднення груп риб у літній період 2017 р. на БЕГС були проведені дослідження з визначення впливу тривалого забруднення амонійним азотом, в тому числі й у високих концентраціях. Об'єктом досліджень був карась сріблястий (*Carassius auratus* (Bloch, 1782)). В ході виконання наукових завдань були обрані 3 водойми із високим вмістом йонів амонію від 24,0 до 48 мг N/дм³ та контрольна водойма з концентрацією амонійного азоту 2,5 мг N/дм³ (відповідали фоновим референтним значенням). Риби в них існували протягом 3 місяців, 3 років та 20 років. В останній водоймі сформувалася стійка популяція цього виду, яка здатна підтримувати свою чисельність.

У літній період 2018 р. із озер Бабине, Кирилівське та Лугове, що розташовані у м. Києві, було відловлено найбільш поширені представники корошових видів риб, а саме: краснопірку звичайну (*Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758)), плітку звичайну (*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)) і карася сріблястого (*Carassius auratus* (Bloch, 1782)), з яких було відібрано зразки крові, різних органів та тканин для подальших біохімічних досліджень.

2.1. Фізико-хімічна характеристика водних об'єктів.

Ставки дендропарку «Олександрія» на БЕГС Інституту гідробіології (м. Біла Церква). Живлення каскаду водойм дендропарку «Олександрія» відбувається за рахунок джерельних вод, їх проточність у межах 9–11 м³/год. Обрані дослідні водойми характеризувались наступними показниками: умовний контроль (№ 1) – 0,4 га, з мінімальною та середньою глибинами 1,0 та 2,5 м відповідно, концентраціями йонів амонію 1,0–2,5 мг N/дм³ (присутні 8–10 видів риби). У дослідній водоймі, № 2 (період перебування піддослідних риби 3 місяці) концентрація йонів амонію на період досліджень становила 2,0–24,0 мг N/дм³. Дослідна водойма, № 3 (період перебування піддослідних риби 3 роки) мала концентрацію йонів амонію 3,0–24,3 мг N/дм³. Найзабрудненіша водойма, № 4 (період перебування піддослідних риби більш 20 років) має площу 1,0 га з мінімальною та середньою глибинами 3,5 та 1,2 м відповідно. На момент проведення досліджень концентрація йонів амонію становила 4,0–48,0 мг N/дм³ (наявні 2 види риби).

На період проведення досліджень температура води у водоймах становила № 1 – 26,0–29,0°C; № 2 – 24,0–26,5°C, № 3 – 24,0–26,0°C; № 4 – 23,0–26,0°C, а водневий показник (рН) – № 1 – 8,8; № 2 – 8,12; № 3 – 8,19; № 4 – 8,23. Середня розрахункова концентрація аміаку у воді під час досліджень становила: № 1 – 0,65 мг N/дм³, № 2 – 5,76, № 3 – 5,83, № 4 – 11,52 мг N/дм³.

Загальна характеристика досліджених озер м. Києва. За даними низки авторів на сьогодні якість води в озерах системи «Опечень» відзначають як незадовільну [8]. Окремі озера класифікують за IV і V класами якості води – «погана» та «дуже погана» [106].

Систему водойм «Опечень» наразі використовують для акумуляції дощового, талого та підземного стоку [108]. Озера втратили заплавну функцію і на сьогодні це каскад водойм кар'єрного типу, що фактично виконує роль колектора, який накопичує поверхневий стік із площі 6,0 тис. га. У більшості озер береги піщані, пологі, берегова лінія слабо звивиста, водойми мало

проточні [108]. Це позначилось на гідрохімічних властивостях води в зазначених озерах.

Оз. Лугове має довжину 1,1 км, ширина коливається на різних ділянках у межах 70–120 м, площа водного дзеркала сягає 11,9 га [47]. Згідно з даними моніторингових спостережень низки дослідників проведених за період з 1990 до 2003 рр. у цьому озері відбулося збільшення концентрації нафтопродуктів у 23 рази, а вміст органічних речовин збільшився у 2,2 раза [108]. Крім того, у водойму щорічно скидається 3,83 млн. м³/рік неочищених стічних вод, що майже в 3 рази перевищує об'єм озера. Стічні води, що містять у своєму складі забруднюючі речовини, зокрема нафтопродукти – 50,6 т/рік, зважені речовини – 5497,75 т/рік [108]. Вони надходять із прилеглої території, де зокрема розташовані заводи, гаражні кооперативи, автомийні станції, тощо [47; 108]. У наслідок інтенсивного забруднення відбулось істотне збіднення видового складу іхтіофауни (встановлено наявність 10-ти видів риб), зокрема придонного комплексу. Це свідчить про найбільше екологічне навантаження на зазначене озеро з боку токсичних речовин із прилеглих територій [166].

Оз. Кирилівське має довжину 760 м з найбільшою шириною – 380 м, площу водного дзеркала – 19 га, об'єм – 2,28 млн. м³, середню глибину – 12 м, а найбільша – 15 м. У зазначене озеро впадають р. Сирець та Кирилівський струмок [47]. Стік р. Сирець формується за рахунок підземних, поверхневих та скидних вод промислових підприємств, зливових систем житлових масивів Сирець, Куренівка, Виноградар [170]. Озеро з'єднується з оз. Богатирським та оз. Йорданським трубопроводами. Сумарна величина притоку поверхневих вод до оз. Кирилівського становить 2988 тис. м³ на рік [8]. В озеро надходять води низки промислових підприємств. Крім того у воду потрапляють токсиканти із ґрунтовими та зливовими водами із житлових масивів Оболонь, Куренівка та Сирець [86; 133; 170].

За період з 2007–2012 рр. у озері було встановлено концентрацію нафтопродуктів – 194,4–380,4 мг/дм³, фенолів – 167,7–225,0 мг/дм³, АСПАР – 43,4–455,3 мг/дм³ [133].

Озера Кирилівське та Лугове класифікуються як «брудні» та «дуже брудні» за IV і V класами якості води – «погана» і «дуже погана» [108].

Іншими дослідниками було встановлено 27 видів представників іхтіофауни, серед яких 4 види хижих риб, 17 бентофагів, а наявність окремих видів, таких як судак, в'язь, головень, йорж, 4 види бичків [115], може свідчити про задовільні умови існування для цих екологічних груп.

Оз. Бабине було обране як контрольну водойму, яке розташоване у лісопарковій зоні м. Києва на території Труханового острова посеред р. Дніпро і входить до складу заплавних водойм лівого берега Канівського водосховища. Загальна площа озера становить 9,5 га, довжина – 1,7 км, ширина – 35–80 м, середня глибина – 2 м, максимальна – 5 м. Оз. Бабине не піддавалось суттєвому антропогенному впливу, тому вода з цього озера відповідає воді класу II категорії 3 (добра, досить чиста) [171]. В цьому озері за період з 2007 по 2012 рр. було зафіксовано: нафтопродуктів – 52,4–109,2 мг/дм³, фенолів (у літній період) 167,0– 172,0 мг/дм³, хрому (III) – 11,4–33,6 мкг/дм³ [133]. Не зважаючи на це, озеро є сприятливим для існування багатьох видів гідробіонтів. Разом з тим, слід зауважити, що у цьому озері представлено дещо нижчий видовий склад іхтіофауни (23 види) порівняно з оз. Кирилівське (27 видів риб, серед яких 4 хижих види) [115, 166]. Проте, це може бути обумовлено ізолюваністю зазначеної водойми від русла р. Дніпро.

На момент відбору проб гідрохімічний стан озер Бабине, Кирилівське та Лугове наведений у Табл. 2.1.1.

Загальна мінералізація в озерах Кирилівське та Лугове була вищою у 2,0 та 2,5 рази, ніж у оз. Бабине. Вміст біогенних елементів у цих водоймах та важких металів у оз. Кирилівське також були суттєво вищими, щодо умовно контрольної водойми. Це свідчить про значне надходження токсикантів разом із комунально-побутовими та гаражно-кооперативними стічними водами. Найбільший вміст нафтопродуктів у воді та донних відкладах спостерігався у оз. Лугове. Крім того, низкою авторів було опрацьовано дані стосовно вмісту токсичних сполук у донних відкладах озер Бабине та Лугове і встановлено високий вміст нафтопродуктів у оз. Лугове – 438,4 проти 11,6 мг/кг з

оз. Бабіне. Це вкотре підтверджує особливо несприятливі екологічні умови для донної фауни озера [166].

Таблиця 2.1.1.

Характеристика гідрохімічного стану досліджених озер за результатами власних досліджень (*), за даними Гончарової М. Т., Кіпніс Л. С. та ін., 2019 [29] (**) та Марценюка В. М., 2019 [92] (***).

Показники	оз. Бабіне	оз. Кирилівське	оз. Лугове
t°C	19-24*	18-21*	21-24*
Розчинений кисень, мг/дм ³	6,25*	8,33*	5,89*
Водневий показник, рН	8,23*	7,8-8,2*	8,53*
Загальна мінералізація води, , мг/дм ³	281*	540-620*	690**
Сульфати, , мг/дм ³	22,2*	60-137*	63,5-82,0**
Хлориди, , мг/дм ³	19,9*	118,8-133,5*	128,0-153,0**
N-NH ₄ ⁺ , , мг/дм ³	0,51–0,91*	1,52–1,84*	1,3–2,24*
N-NO ₃ ⁻ , мг/дм ³	0,016–0,017*	0,018–0,026*	0,015–0,088*
N-NO ₂ ⁻ , мг/дм ³	0,018–0,024*	0,013–0,035*	0,018–0,078*
P-PO ₄ ³⁻ , мг/дм ³	0,107–0,129*	0,164–0,263*	0,153–0,242*
Нафтопродукти у воді, мг/дм ³	0,046*-0,052**	0,12**	0,154*-0,81**
Нафтопродукти у донних відкладах, мг/кг	0,9**	63,3**	438**
Pb, мкг/дм ³	32***	39,9***	—
Cu, мкг/дм ³	8***	39,4***	—
Zn, мкг/дм ³	35,1***	89,0***	—
Mn, мкг/дм ³	90,9***	80,5***	—
Ni, мкг/дм ³	12***	52***	—
Fe, мкг/дм ³	540***	670***	—
Cd, мкг/дм ³	≤0,05***	0,06***	—
Co, мкг/дм ³	0,59***	2,2***	—

Отже оз. Бабине, завдяки острівній ізоляції від міста мало зазнає антропогенного впливу. В оз. Кирилівське відзначається помірний рівень антропогенного забруднення. Найбільш забрудненою водоймою є оз. Лугове.

2.2. Методи гіdroхімічних досліджень.

У всіх дослідних водоймах під час проведення досліджень вимірювали температуру води за допомогою ртутного термометра з одиницею виміру $0,1^{\circ}\text{C}$. Величину водневого показнику (pH) встановлювали рН-метром РН-009. Концентрацію амонійного азоту визначали фотометричним методом з використанням реактиву Неслера [1]. Концентрацію розчиненого кисню у воді визначали методом Вінклера [5], загальну мінералізацію – за допомогою TDS-метра IDS-2.

2.3. Методика постановки модельних експериментів.

Модельні токсикологічні дослідження проводили в акваріумах об'ємом 30 дм^3 . В експериментах використані як референтні токсиканти дихромат калію та фенол. Кількість піддослідних риб становила 35 особин/ 30 см^3 . Гірчак мав лінійний розмір 3-4 см. і масу 5-5,5 г. Чебачок мав лінійний розмір 4-5 см. і масу 6,5-7 г. Воду використовували із р. Рось. Перед початком дослідів (до внесення токсичних речовин) риб утримували у акваріумах впродовж 3-х діб. Після цього вносили токсиканти у концентраціях 2,5; 5,0; 10,0 та $20,0\text{ мг/дм}^3$ дихромату калію та 0,01; 0,1; 1,0 та $5,0\text{ мг/дм}^3$ фенолу. За заданих умов гірчака європейський та амурського чебачка утримували впродовж 14 діб. Дослідження відбувались за стабільної температури води $19\text{--}20^{\circ}\text{C}$ та концентрації розчиненого кисню вище за $5,0\text{ мг/дм}^3$. Під час проведення експериментів кожної доби в ємностях проводили заміну $1/3$ об'єму води з розчином токсикантів.

2.4. Методи проведення фізіологічних досліджень.

Індекси печінки, селезінки та гонад розраховували загальноприйнятими методиками, порівнюючи масу органів до маси тіла риб [110]. Вгодованість за Фультоном та Кларк встановлювали згідно загальноприйнятих методів [110, 171]. Коефіцієнт вгодованості за Фультона розраховували за формулою: $Q(\phi) = W \times 100 / L^3$, де $Q(\phi)$ – коефіцієнт вгодованості; w – маса риби, г; L – довжина риби від початку риля до кінця хвостового плавця, см. Коефіцієнт вгодованості за Кларк – $Q(k) = W \times 100 / l^3$, де $Q(k)$ – коефіцієнт вгодованості, w – маса риби без нутрощів, г; l – довжина риби від початку риля до кінця лускатого покриву, см.

Вік риби визначали за річними кільцями луски [110]. Абсолютну плодючість визначали, відбираючи із середньої частини гонад наважки по 0,5 г та перераховували кількість ікринок у ній та у гонадах у цілому [110]. Загальна кількість досліджуваних риб становила 990 особин.

2.5. Методи проведення біохімічних досліджень.

Із кожної водойми було вилучено по 25–30 особин кожного виду риб, з яких мінімум у 5-ти особин були відібрані зразки крові, печінки, зябрових пелюстків та м'язів для подальшого проведення біохімічних досліджень. Відбір крові здійснювали із серця за допомогою гепаринізованого шприца. Потім її центрифугували протягом 15 хв при 3000 об./хв для виділення плазми. Плазму та інші проби зберігали у морозильній камері при температурі -18°C .

Біохімічні дослідження проводили у лабораторії Інституту гідробіології НАН України.

Вміст глікогену (мг/г) – визначали антроновим методом за допомогою фосфор-ванілінового реагенту [128]. В дослідну пробу вносили 0, мл гомогенату з додаванням 2 мл сірчаної кислоти, перемішували та інкубували на киплячій водяній бані 20 хв. Після охолодження пробірок 3-5 хв. Холодною водою відміряли у пробірки, вміст загальних білків (мг/г) – за Лоурі [268], вміст

загальних ліпідів визначали з використанням фосфорнованілінового реактиву [164].

Визначення вмісту малонового діальдегіду проводили у 100–200 мг тканин печінки дослідних риб, які гомогенізували у 2,5 мл буферу 0,025 М трис-НСІ з 0,175 М КСІ та 3,94 г трис на 1 дм³. (рН 7,4), після чого додавали 1 мл 17 % ТХУ та центрифугували впродовж 10 хв при 4 000 об/хв. Після цього у пробірку відбирали 1 мл надосадової рідини, до якої додавали 1 мл 0,8 % розчин тіобарбітурової кислоти (ТБК) та 1 мл буферу, витримували на водяній бані впродовж 10 хв при температурі 100°C. Дослідну пробу вимірювали проти 2-х мл буфера з 1 мл ТБК на спектрофотометрі СФ26 при довжині хвилі 532 нм [154].

Активність ферментів визначали у гомогенаті та супернатанті. Для цього 200 мг тканини гомогенізували в 0,2 М КСІ в гомогенізаторі, після чого центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. для отримання супернатанту.

Активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) визначали за методом Севела-Товарека [314] для цього у дослідну пробу 0,05 мл супернатанту додавали 0,15 мл розчину НАД у концентраціях 3 г/дм³ та інкубували впродовж 5 хв при 25°C. Після чого вносили 0,4 мл 0,03 моль/дм³ розчину лактат натрію та 0,1 мл 0,45 моль/дм³ розчину лактату натрію та попередньо інкубували при 25°C. Після чого суміш знову інкубували при 25°C впродовж 15 хв. Потім вносили 0,25 мл розчину 2,4-ДНФГ та витримували 20 хв. при кімнатній температурі. Потім додавали 2,50 мл 0,4 моль/дм³ розчину гідроксиду, перемішували та визначали через 10 хв у кюветі з товщиною шару 1см при довжині хвилі 505 нм проти холостої проби. Холосту пробу готували як дослідну, але супернатант додавали після інкубації.

Активність сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.5.1) встановлювали стандартним методом за кількістю відновленого гексаціаноферату (III) калію [128]. В інкубаційне середовище (1 мл 0,1 М фосфатного буферу (рН 7,8)), 0,1 мл 0,1 М бурштинової кислоти, 0,1 мл 25 мМ ЕДТА, 0,1 мл 150 мМ азиду натрію, 0,1 мл дистильованої води) додавали 0,2 мл гомогенату тканини, після інкубації (15 хв при температурі 25°C) додавали 0,1 мл 25мМ фериціаніду

калію та продовжили інкубацію ще на 15 хв (при температурі 25°C). Для зупинки реакції вносили 2 мл 20 % розчину ТХУ та центрифугували 15 хв при 6000 об./хв. Визначення проводили проти суміші 20% ТХУ та фосфатного буферу. Довжина хвилі – 420 нм. Активність ферменту визначали за формулою: $A=1000 \times 3,25 \times \Delta E / m \cdot t$, де ΔE – різниця між $E_k - E_0$, t – час інкубації, m – наважка тканини.

Активність лужної фосфатази (КФ 3.1.3.1) встановлювали за розщепленням фенілфосфату з утворенням фенолу [19]. Принцип методу заснований на утворенні червоного барвника, інтенсивність забарвлення якого визначається фотометрично за довжини хвилі 530 нм. Активність ферменту розраховували за формулою: $E_{\text{досл}} / E_{\text{кал}} \times 8300 \text{ нмоль} / (\text{с} \times \text{дм}^3) / \text{г. тканини у 1 л.}$ Субстратно-буферний розчин, який мистив: 48 мг CaCO_3 , 25 мг NaHCO_3 , 15 мг 4 амінозон та 100 мг дінатрійфенілфосфату у 3 мл дистильованій воді, інкубували 3 хв за температури 25°C. У субстратно-буферного розчину додавали 0,1 мл гомогенату тканини або супернатанту (дослідна проба), 0,1 мл калібрувального розчину (0,1 мл 50 ммоль/дм³ фенолу) (калібрувальна проба) та 0,1 мл дистильованої води (холоста проба). Зразки інкубували впродовж 10 хв. за температури 25°C. Визначення дослідної та калібрувальної проб проводили проти холостої. Вимірювання проводили за довжиною хвилі 530 нм.

Активність Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатази (КФ 3.6.1.4) визначали за наростанням неорганічного фосфору в дослідній пробі (метод Фіске-Субароу) [223]. В інкубаційне середовище (1 мл 0,05 М трис- HCl -буфера, 2,5 мг АТФ в 0,2 мл води, 0,2 мл суміші солей (1 М розчин NaCl , 0,2 М розчин KCl , 0,05 М розчин $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$)) вносили 0,1 мл дистильованої води та 0,2 мл гомогенату тканини або супернатанту. Після цього, дослідні проби інкубували впродовж однієї години за температури 25°C. Для зупинення реакції додавали 1 мл 10 % ТХУ та центрифугували при 3000 об./хв впродовж 10 хв. Далі, у дослідну кюветку відбирали 0,1 мл надосадової рідини, додавали до неї 3 мл етилового спирту (96 %) та 0,4 мл 20 % молібдату амонію у 8 н розчині сірчаній кислоті. Вимірювання проводили фотометрично за довжини хвилі 390 нм. Розрахунок

активності ферменту проводили за формулою: $x = D_{\text{фосфору}} \times 60 / \text{білок в } 0,1 \text{ мл та}$
 виражали у нМоль/мгбілку $\times$ хв.

Активність аспартатамінотрансферази (КФ 2.6.1.1.) визначали методом Райтмана-Франкеля [19] для визначення у пробірці вносили 0,25 мл субстратно-буферної суміші, яка складалась із фосфатного буферу 0,1 ммоль/дм³, 0,2 ммоль/дм³ DL-аспартат, 2,0 ммоль/дм³ α -кетаглютарової кислоти, і витримували при температурі 25°C впродовж 5 хв, потім вносили 0,05 мл гомогенату чи супернатанту та інкубували проби при 25°C впродовж однієї год. Потім, додавали 0,25 мл 1,0 М розчину 2,4-ДНФГ витримували 20 хв. при кімнатній температурі. Після того вносили 2,50 мл 0,4 N гідроксиду натрію та витримували 10 хв. Холоста проба готувалася аналогічний чином, але 0,05 мл гомогенату чи супернатанту після внесення розчину 2,4-ДНФГ. Вимірювали оптичну щільність дослідної проти холостої проби у 1 см кюветі при довжині хвилі 505 нм. Для визначення активності ферменту використовувати калібрувальний графік, побудований за допомогою піровиногранокислого натрію.

Активність аланінамінотрансферази (КФ 2.6.1.2.) визначали методом Райтмана-Франкеля [19] для визначення у пробірці вносили 0,25 мл субстратно-буферної суміші, яка складалась із фосфатного буферу 0,1 ммоль/дм³, 0,2 ммоль/дм³ DL-аланін, 2,0 ммоль/дм³ α -кетаглютарової кислоти, і витримували при температурі 25°C впродовж 5 хв, потім вносили 0,05 мл гомогенату чи супернатанту та інкубували проби при 25°C впродовж однієї год. Потім, додавали 0,25 мл 1,0 М розчину 2,4-ДНФГ витримували 20 хв. при кімнатній температурі. Після того вносили 2,50 мл 0,4 N гідроксиду натрію та витримували 10 хв. Холоста проба готувалася аналогічний чином, але 0,05 мл гомогенату чи супернатанту після внесення розчину 2,4-ДНФГ. Вимірювали оптичну щільність дослідної проти холостої проби у 1 см кюветі при довжині хвилі 505 нм. Для визначення активності ферменту використовувати калібрувальний графік, побудований за допомогою піровиногранокислого натрію.

Активність НАДФ-залежної глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2.) визначали за методом Захарової [51], одна дослідна проба містила у собі 150 мкмоль трис-НСІ – субстратно-буферної суміші (рН 8,2), яка складалась з 0,3 мкмоль ЕДТА; 0,1 мкмоль НАДФН; 150 мкмоль глутамінової кислоти. Активність НАДФН-залежної ГДГ розраховували в мкмоль НАДФН/мг білку за 1 годину.

У плазмі крові визначали вміст глюкози (ммоль/дм³) глюкозооксидазним методом [25]. У 4 мл субстратно-буферного розчину, який містив 4.4 U пероксидази, 36 U β, D-глюкозооксидази, 0,22 мг 4-амінофеназону, 0,38 мг фенолу та 2 мл 0,1 М фосфорного буферу (рН 7,2-7,4), додавали 0,04 мг гомогенату (дослідна проба) або 0,04 мл дистильованої води (холоста проба). Потім витримували зразки протягом 20 хв при температурі 25 °С. Після цього вимірювали оптичну щільність при 530 нм.

Біохімічні дослідження проводили на спектрофотометрах СФ–26 та UNICO 2800 UV/VIS.

Загальний вміст трийодтироніну (нМ/дм³), тироксину (нМ/дм³) та кортизолу (нМ/дм³) у плазмі крові риб визначали імуноферментним методом з використанням наборів «Т3–ІФА», «Т4–ІФА» (НВЛ «Гранум», Україна) та «ДС–ІФА–Стероїд–Кортизол» (НВО «Діагностичні системи», Росія), на аналізаторі Rayto RT–2100С.

2.6. Методи статистичної обробки матеріалів

Дані обробляли статистично [131] з використанням програм Statistica. 10, програм Excel із пакету Microsoft Office та Epa probit analysis program used for calculating LC/EC values (Version 1.5). Достовірність між досліджуваними групами оцінювали за допомогою Т-критерію Стьюдента за рівня ймовірності ($p < 0,05$).

Моделльні експерименти на амурському чебачку та європейському гірчаку спрямовані на одержання нових наукових знань, і були вкрай необхідними для

правильної інтерпретації наукових результатів. При проведенні модельних експериментів були дотримані правила біоетики з якими було проведено ознайомлення перед початком досліджень.

РОЗДІЛ 3

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ РИБ ДО ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ ТА БІОХІМІЧНІ РЕАКЦІЇ РИБ НА ЇХ ДІЮ

3.1. Токсикорезистентність гірчака європейського та амурського чебачка до дії дихромату калію та фенолу.

Токсикорезистентність гірчака до дії дихромату калію. Через годину після внесення дихромату калію у піддослідних риб, які знаходились у середніх концентраціях токсиканту (5,0 та 10,0 мг/дм³), спостерігалась підвищена рухова активність. За концентрації дихромату калію 20,0 мг/дм³ риби мали високу рухову активність, крім цього активно заковтували повітря, що свідчить про перші ознаки асфіксії.

Через 3,5 год. за найменшої концентрації (2,5 мг/дм³) риби уникали світла та скупчувались у затінених ділянках акваріуму. Проте, в цілому, їх поведінка мало відрізнялась від аналогічної поведінки у особин із контрольної групи. Інтенсивність дихання риб також була наближеною до контрольної групи – 78 ± 5 (n=5). рухів зябрової кришки за хв.

У середніх концентраціях дихромату калію (5,0 та 10,0 мг/дм³) риби тримались біля поверхні води. Інтенсивність дихання становила 91 ± 5 (n=5) рух зябрової кришки за хв., що можна розцінювати як перший прояв гіпоксії.

За найбільшої концентрації токсиканту (20,0 мг/дм³) риби активно заковтували повітря, інтенсивність дихання збільшилась і становила 104 ± 5 (n=5) рухи зябрової кришки/хв., що, вочевидь, пов'язано із посиленням використанням кисню задля підтримки їх фізіологічного стану.

В окремих особин були виявлені чорні плями вздовж всієї поверхні тіла. В деяких інших риб спостерігалось почервоніння очей, який міг викликати досліджуваний токсикант.

На 8-му год. після початку експерименту (за концентрації 20,0 мг/дм³) відбулась перша загибель гірчака, після чого настала масова загибель риб (Рис. 3.1.1). Проте, на 72 год. експозиції в розчині токсиканту загибелі риб не

фіксували. Особини, що вижили, мали сповільнені реакції на зовнішні подразники, інтенсивність дихання зменшилась до 93 ± 5 ($n=5$) рухів зябрової кришки за хв., а загальна виживаність риб на цей час становила 9 %.

За концентрації токсиканту $10,0 \text{ мг/дм}^3$ перша загибель наступала на 48 год., наступна загибель риб тривала до 72 год., після чого смертність також припинилась. Особини що вижили утворювали щільні зграї, мали інтенсивний рух, проте повітря не заковтували, а зяброві кришки здійснювали 87 ± 5 ($n=5$) рухів за хв. З 248-ї по 288-му години загибель риб відновлювалась і тривала до 312-ї години. При завершенні дослідів риби були менш активними у порівнянні з контрольними особинами, а кількість риб, які вижили складала 25%.

За концентрації токсиканту $5,0 \text{ мг/дм}^3$ перший летальний випадок трапився на 240-ву год., подальша смертність риб тривала до 336-ї год. Виживаність становила 68 %.

За найменшої концентрації дихромату калію – $2,5 \text{ мг/дм}^3$ за перший період досліджень смертельних випадків не було зафіксовано, проте під кінець експерименту, на 264-ту год. загинуло 5 %, що підтверджує кумулятивний ефект цієї речовини за сублетальних концентрацій.

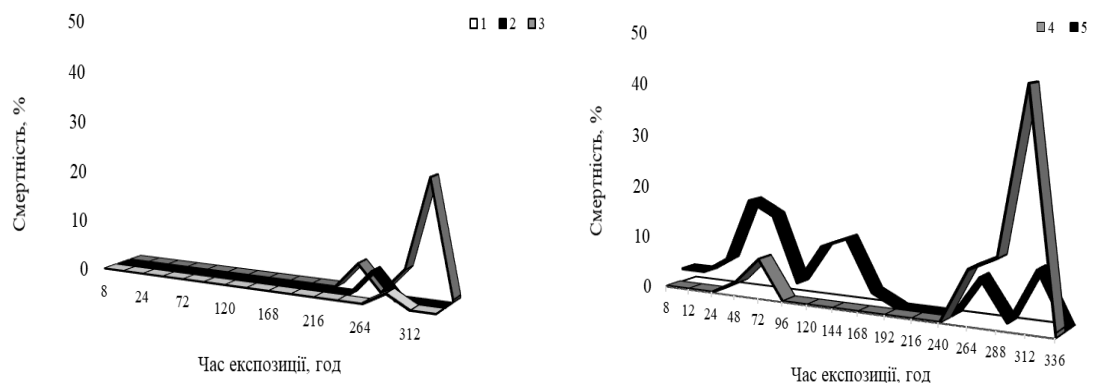


Рис. 3.1.1. Смертність гірчака європейського за попередній період часу за впливу дихромату калію. ($n=35$).

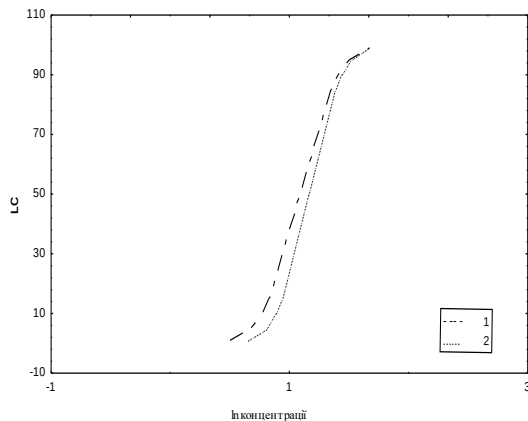
1 – Контроль; 2 – $2,5 \text{ мг/дм}^3$; 3 – $5,0 \text{ мг/дм}^3$; 4 – $10,0 \text{ мг/дм}^3$;

5 – $20,0 \text{ мг/дм}^3$.

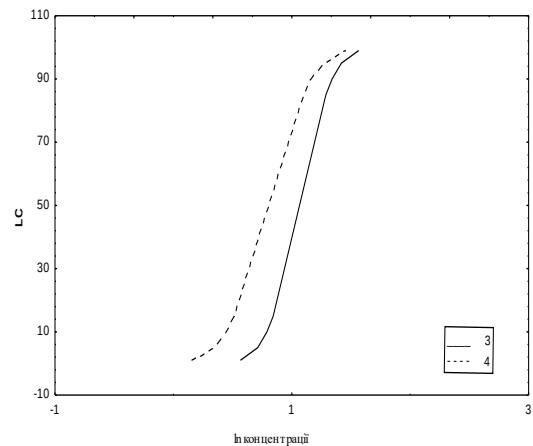
Отже, за максимальної концентрації дихромату калію – $20,0 \text{ мг/дм}^3$ досліджену вибірку гірчака можна умовно розділити на три групи:

1. Вразливі – смертність настає в короткий проміжок часу, внаслідок токсичного стресу (52,5 %);
2. Витривалі – загибель відбувається на 8–9-ту добу після надходження токсиканту (38,5 %);
3. Стійкі – які продемонстрували високі адаптивні можливості до заданих умов та вижили (9 %).

За нашими дослідженнями LC_{50} для гірчака на 24 год. відповідає $53,77 \text{ мг/дм}^3$; на 96 год. – $19,74 \text{ мг/дм}^3$; на 7-му добу – $16,17 \text{ мг/дм}^3$, на 11-ту добу – $12,45 \text{ мг/дм}^3$; на 13-ту добу – $6,71 \text{ мг/дм}^3$ (Рис. 4.1.2).



А



Б

Рис. 3.1.2. Пробіт-аналіз загибелі гірчака європейського залежно від концентрації дихромату калію за: 1 А – 216 год; 2 А – 264 год; 3 Б – 288 год; 4 Б – 312 год. ($n=35$).

Отже, чим довше особи гірчака перебувають у токсичному середовищі за дії дихромату калію, тим менша його напівлетальна концентрація (LC_{50}).

Токсикорезистентність гірчака до дії фенолу. За перші 12 год після внесення фенолу ($0,01$; $0,1$; 1 та 5 мг/дм^3) у всіх ємкостях спостерігалось утворення зграй. Піддослідні особини гірчака інтенсивно рухались біля поверхні акваріумів, проте атмосферний кисень риби не заковтували. За

середніх концентрацій фенолу ($0,1$ та $1,0$ мг/дм³) у гірчака спостерігали меншу рухову активність порівняно з контрольними особинами.

На першу добу була зареєстрована загибель 8 особин гірчака, проте лише за найбільшої концентрації токсиканту ($5,0$ мг/дм³). Наступний пік смертності припав на 9-ту добу та поступово збільшувався, на кінець дослідів смертність риб становила 88 % (Рис. 3.1.3).

За середніх концентрацій фенолу ($0,1$ та 1 мг/дм³) перший летальний випадок трапився на шосту добу, після чого загибель риб поступово збільшувалась. На 14-ту добу смертність гірчака за заданих концентрацій становила 41 та 53 % піддослідних риб.

У найменшій концентрації фенолу ($0,01$ мг/дм³) смертність, як і у контролі, була відсутньою.

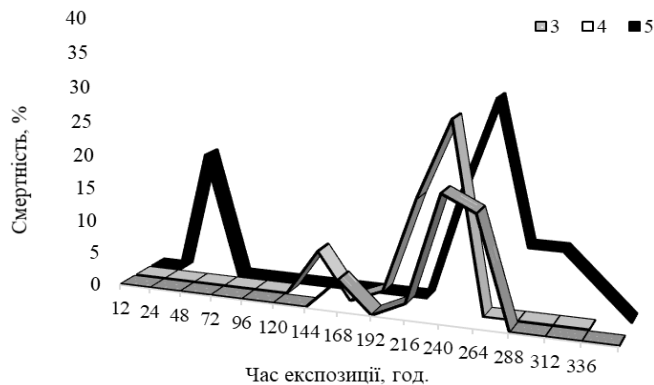


Рис. 3.1.3. Смертність гірчака європейського за попередній період часу за впливом фенолу. (n=35).

У контролі та $0,01$ мг/дм³ смертність відсутня; 3 – $0,1$ мг/дм³; 4 – $1,0$ мг/дм³; 5 – $5,0$ мг/дм³.

Встановлено, що за найбільшої концентрації ($5,0$ мг/дм³) риби гинуть у перші години після внесення токсичної речовини, за менших концентрацій цей процес відбувається лише на шосту добу. Втім, восьма доба – є критичною для гірчака за дії підвищених концентрацій фенолу, адже саме в цей період настає повторна хвиля загибелі риб. Найбільша загибель дослідних особин припадає на одинадцяту добу.

Під впливом фенолу, також як і за впливу дихромату калію, вибірка гірчака з найбільшої концентрації – $5,0 \text{ мг/дм}^3$, теж розподілились на 3 групи:

1. Вразливі – смертність настає в короткий проміжок часу внаслідок токсичного стресу (31,0 %);
2. Витривалі – загибель настає від акумуляції токсиканту організмом риб і летальна дія настає на 9-13-ту добу після надходження токсиканту (57,0 %);
3. Стійкі, які продемонстрували високі адаптивні можливості до заданих умов та вижити (12,0 %).

Токсикорезистентність амурського чебачка до дії дихромату калію.

Через годину після внесення дихромату калію, в усіх заданих концентраціях чебачок тримався на поверхні, через дві години за середньої концентрації дихромату калію ($5,0 \text{ мг/дм}^3$), у риб спостерігалось інтенсивне споживання атмосферного кисню, що може вказувати на асфіксію. Крім того, була встановлена загибель однієї особини, у якої спостерігались крововиливи на різних ділянках тіла.

Через півтори години за концентрації $20,0 \text{ мг/дм}^3$ дихромату було троє загиблих з ознаками кровотечі у черевній порожнині, з них одна особина мала опуклі очі та ще одна особина була на межі загибелі (Рис. 3.1.4).

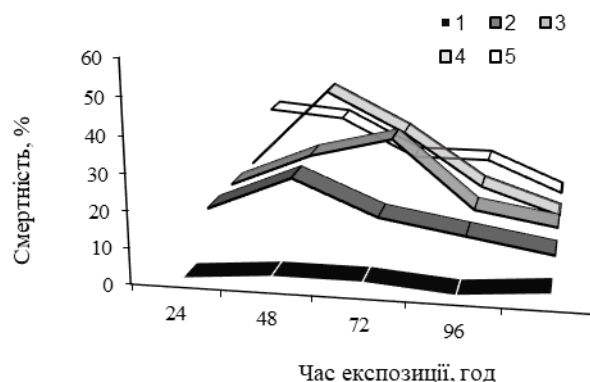
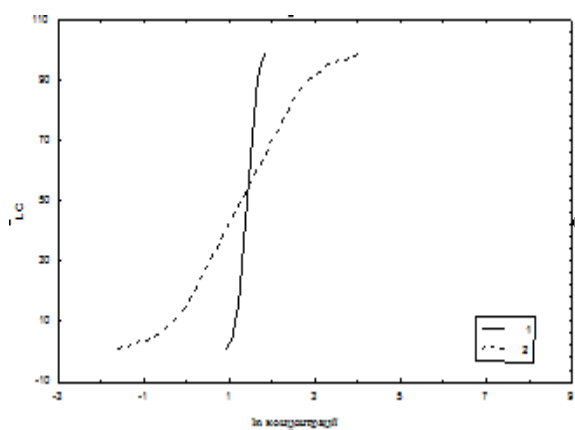


Рис. 3.1.4. Смертність амурського чебачка за попередній період часу за дії дихромату калію. (n=35). 1 – Контроль; 2 – $2,5 \text{ мг/дм}^3$; 3 – $5,0 \text{ мг/дм}^3$; 4 – $10,0 \text{ мг/дм}^3$; 5 – $20,0 \text{ мг/дм}^3$.

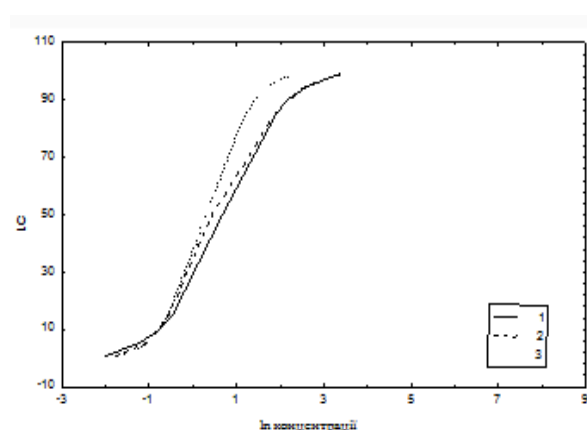
Після трьох годин від початку досліду риб з усіх експериментальних акваріумів припинили реагувати на зовнішні подразнення. Особини з підшкірними крововиливами частково тримались на поверхні води.

За перші 12 год експерименту за концентрацій 2,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³, від стресу загинуло відповідно 12; 12; 12 та 38 % дослідних риб. На першу добу відсоток загиблих дослідних особин збільшився до 34; 34; 48 та 62 %, а на четверту (останню) добу загальна кількість загиблих становило 58, 74, 80 та 94 % відповідно. У свою чергу, в контрольній групі загибель амурського чебачка становило 6 %.

За нашими дослідженнями LC_{50} для чебачка на 12 год. становить 25,1 мг/дм³; на 24 год. – 18,5 мг/дм³; на 48 год. – 4,8 мг/дм³, на 72 год. – 2,8 мг/дм³; на 96 год. – 2,3 мг/дм³ (Рис. 3.1.5). Отже, напівлетальна концентрація фенолу для чебачка зменшується відповідно до тривалості перебування в отруйному середовищі.



А



Б

Рис. 3.1.5. Пробіт-аналіз загибелі амурського чебачка залежно від концентрації дихромату калію за: 1 А – 12 год; 2 А – 24 год.; 1 Б – 48 год.; 2 Б – 72; 3 Б – 96 год. (n=35).

Встановлено, що за дії дихромату калію амурський чебачок починає гинути у перші години та з часом його смертність поступово збільшується відповідно до заданих концентрацій. Через значну загибель риб в наслідок токсичного ураження нами не встановлений чіткий розподіл чебачка на групи за ступенем витривалості риб до високих концентрацій дихромату калію.

Токсикорезистентність амурського чебачка до дії фенолу. Через 30 хв від початку експерименту в дослідних акваріумах із концентраціями 0,01; 0,1 та 1,0 мг/дм³ фенолу спостерігався хаотичний рух риб, а за найбільшої концентрації токсиканту (5,0 мг/дм³) риби тримались на дні та перебували у нерухомому стані.

Через півтори години поведінка змінилась – за нижчої та середніх концентрацій фенолу чебачек послабив рухову активність. Проте за концентрації токсиканту 1,0 мг/дм³ дослідні риби характеризувались високою руховою активністю, а за 5,0 мг/дм³ була зареєстрована перша загибель риб, яка через 3 год від початку експерименту.

Через 6,5 год поведінка у всіх дослідних риб не відрізнялась від поведінки контрольної групи.

На 72-гу годину ймовірно від стресу почалась загибель риб у всіх концентраціях фенолу – 2; 10; 10 та 10 %, відносно контролю (Рис. 3.1.6.). На кінець експерименту смертність чебачка становила 8; 18; 18 та 22 %, щодо контролю, відповідно до концентрацій фенолу 0,01; 0,1; 1,0 та 5,0 мг/дм³.

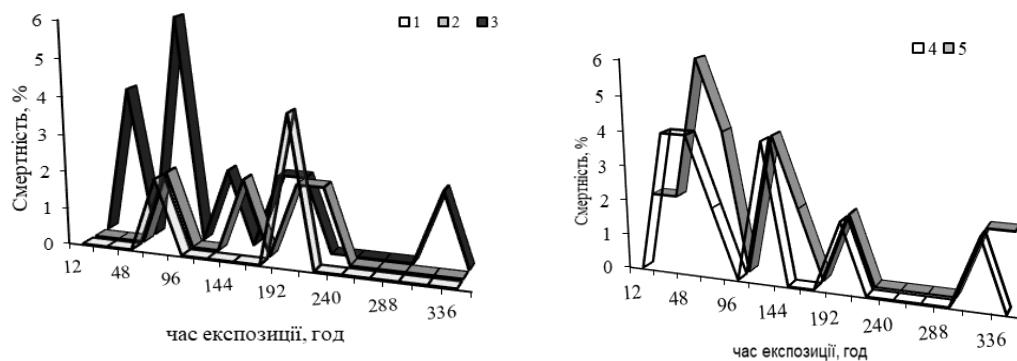


Рис. 3.1.6. Смертність амурського чебачка за попередній період часу за дії фенолу. (n=35). Примітка: 1 – Контроль; 2 – 0,01мг/дм³; 3 – 0,1мг/дм³; 4 – 1,0мг/дм³; 5 – 5,0 мг/дм³.

Таким чином, встановлено, що за максимальних концентрацій дихромату калію та фенолу особини гірчака європейського розподіляються на стійкі та

менш стійкі групи. Характерним є те, що за дії фенолу гірчак реагує швидше, проте найбільша кількість загиблих риб спостерігалась за дії дихромату калію.

Встановлено, що амурський чебачок був менш стійким до токсичного впливу обох видів токсикантів, варто зауважити, що цей вид подібним чином реагує на дію дихромату калію та фенолу.

Смертність риб настає в перші години експерименту, проте за дії дихромату калію високий рівень смертності, залежно від концентрації токсиканту, триває до 96-ти год, а за дії фенолу до 336-ї год.

Смертність риб від негативних проявів стрес-реакцій не спостерігається. Загибель риб розпочинається по мірі накопичення токсиканту в тканинах риб. Саме це є особливістю цього виду.

Розподілу чебачка по витривалості за цими токсикантами на групи нами не визначено, але розподіл чебачка на групи було встановлено іншими авторами у дослідженнях впливу амонійного азоту [118].

Разом з тим, у всіх дослідних груп риб залишаються стійкі особини, які здатні вижити у екстремальних умовах існування. В наступних підрозділах буде висвітлено фізіолого-біохімічні особливості стійких груп риб за дії зазначених вище токсичних речовин.

3.2. Вплив токсичних речовин на вміст енергоємних сполук у стійкої групи гірчака європейського та амурського чебачка.

Гірчак європейський. За результатами проведених досліджень було встановлено, що за дії дихромату калію у концентрації 2,5–20,0 мг/дм³ у тканинах печінки дослідного гірчака європейського відбулось зниження вмісту ліпідів на 7,6–15,3 % відносно контролю, аналогічні зміни були встановлені також й у м'язовій тканині – від 12,5% до 18,8 % (Рис. 3.2.1.).

За концентрацій фенолу 0,01–5,0 мг/дм³ було встановлено зменшення вмісту ліпідів у тканинах печінки на 7,2–19,5 % відносно контролю. Також було встановлено зниження вмісту ліпідів у м'язовій тканині на 13,6–28,5 % порівняно до контролю.

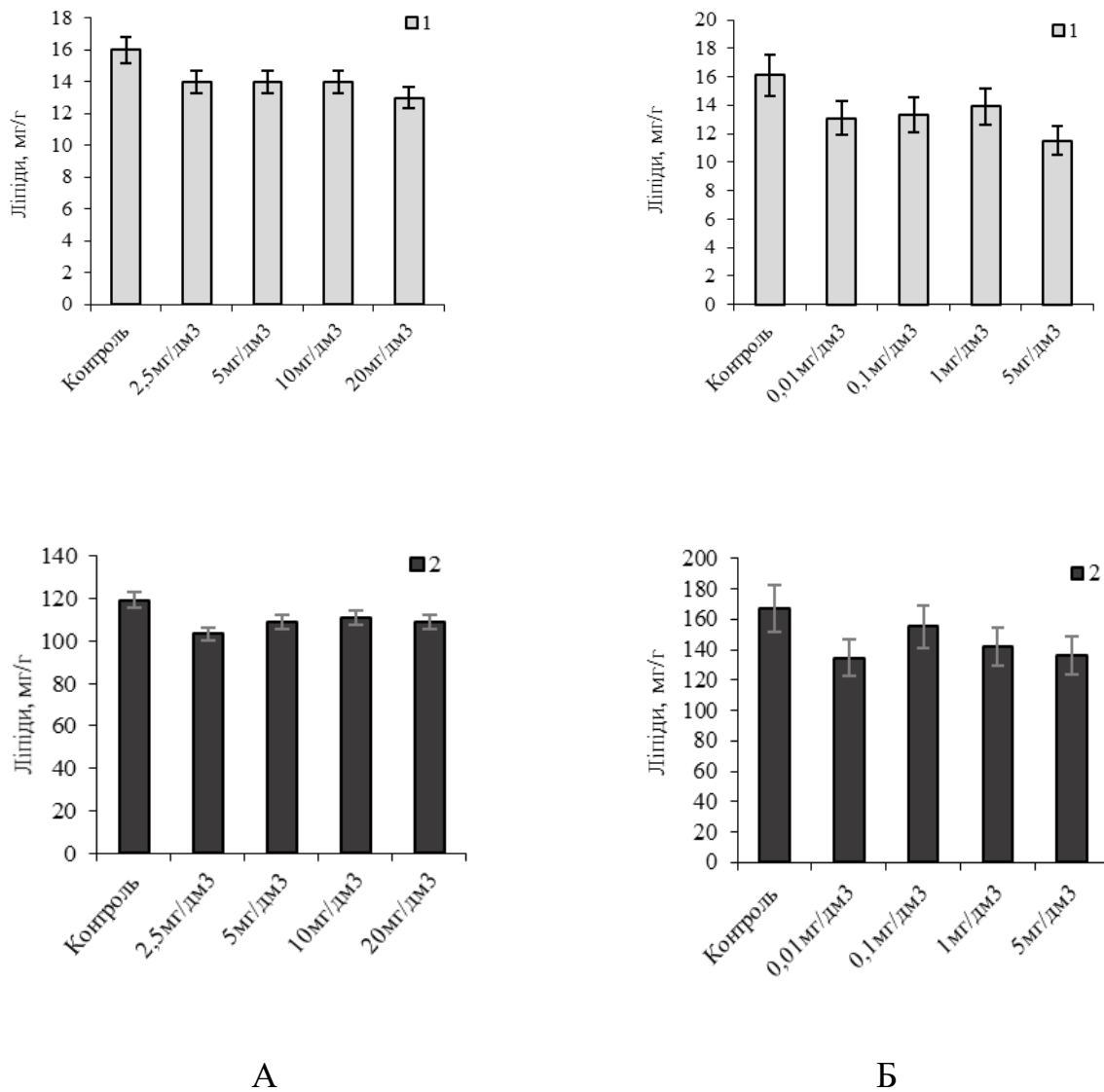


Рис. 3.2.1. Вміст ліпідів у м'язах (1) та печінці (2) гірчака за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), $M \pm m$, $n=5-10$.

Амурський чебачок. У м'язах чебачка за дії дихромату калію у концентраціях 2,5–20,0 мг/дм³ та фенолу у концентраціях 0,01–5,0 мг/дм³ також знижувався вміст ліпідів у м'язах на 20–30 % та 27–63 %, відповідно та порівняно відносно контролю (Рис. 3.2.2).

Це вказує на те, що дослідні види риб активно залучають зазначений енергомістку сполуку для протидії токсичному впливу, який здійснювали як дихромат калію, так і фенол.

Проте, за дії фенолу особини амурського чебачка у більшій мірі використовують ліпіди, ніж за дії дихромату калію. Це, може бути пов'язаним із різною хімічною природою токсикантів, тобто внаслідок інтоксикації

сполуками фенолу, риби інтенсивніше залучають ліпіди для забезпечення процесів подолання їх негативної дії.

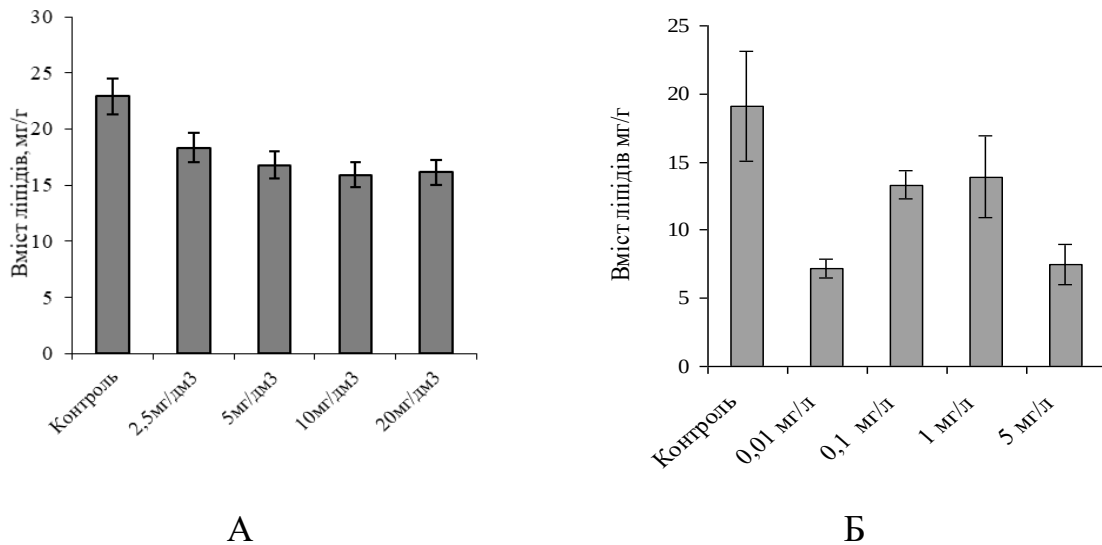


Рис. 3.2.2. Вміст ліпідів у м'язах чебачка за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), $M \pm m$, $n=5-10$.

Отримані результати узгоджуються із даними [330], де за дії сполук фенолу на мозамбіцьку тиліпію істотно знижувався вміст ліпідів у різних її тканинах.

3.3. Вплив дихромату калію та фенолу на вміст кортизолу, тироксину та глюкози у плазмі крові гірчака європейського.

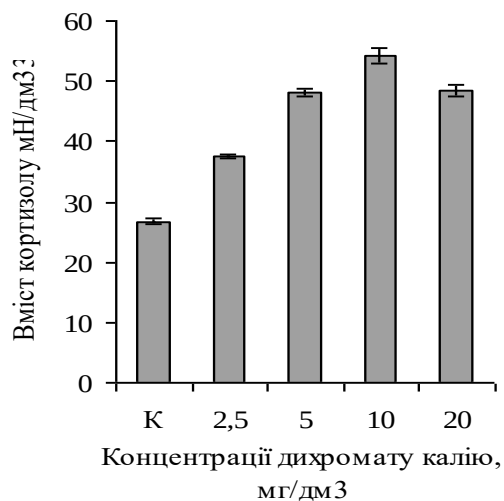
Одним із різновидів екологічного моніторингу є біохімічний, а саме за показниками, які швидко реагують на зміни (навіть несуттєві) у зовнішньому середовищі. Такими показниками можуть бути зміни вмісту кортизолу, тироксину та глюкози, адже вони є надійними індикаторами, за якими можна оцінити фізіологічний стан риб під впливом несприятливих умов існування.

Відомо, що переважна більшість токсикантів викликають у риб стрес. Враховуючи велике біологічне різноманіття видів риб у природі відмічена неоднорідність їх реакції на стрес, що викликано, перш за все, фізіолого-

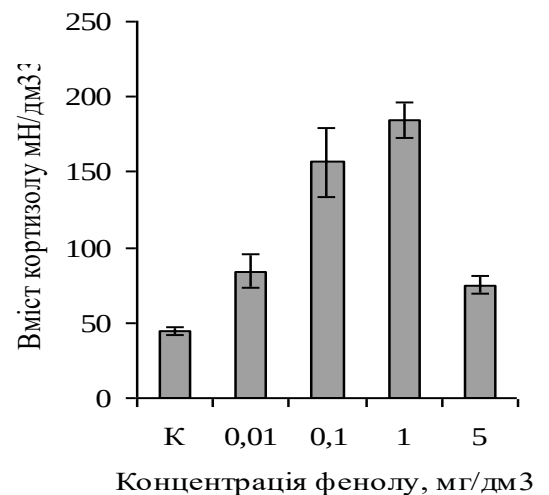
біохімічними особливостями та екологічними нішами, які займають конкретні види.

За результатами біохімічних досліджень встановлено, що за концентрації дихромату калію 2,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³ вміст кортизолу в плазмі крові гірчака зростає відносно контролю на 28,54; 44,4; 50,62; 44,77 % відповідно. Аналогічну тенденцію встановлено за концентрацій фенолу 0,01; 0,1; 1 та 5,0 мг/дм³, де вміст кортизолу в крові збільшується у 24,3; 34,0; 13,8 та 37,8 %, відносно контролю (Рис. 3.3.1).

Такі результати вказують на розвиток стресу в риб за дії зазначених токсичних речовин. Відомо, що кортизол бере активну участь у процесах, спрямованих на заощадження енергоресурсів у після стресовий період. У цьому полягають пристосувальні реакції риб за дії негативних чинників [275]. Крім того, кортизол одним із перших активує енергетичний обмін задля подолання стресового стану, шляхом залучення ліпідів та глюкози для пристосування до негативних явищ. Ймовірно саме через збільшення вмісту цього гормону відбулось зниження вмісту ліпідів у печінці та м'язах дослідних груп гірчака за дії обох токсикантів (Рис. 3.2.1.).



А



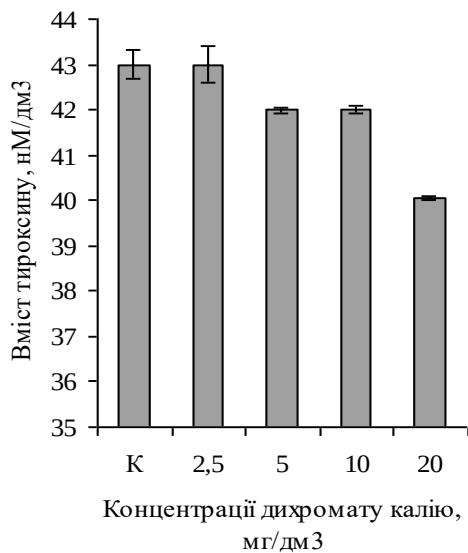
Б

Рис. 3.3.1. Вміст кортизолу в плазмі крові гірчака за дії дихромату (А) та фенолу (Б), $M \pm m$, $n=5-10$.

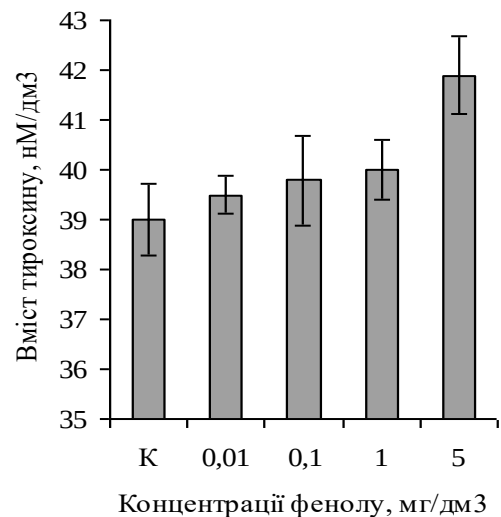
За результатами досліджень встановлено, що вміст тироксину (Т4) в плазмі крові гірчака за найменшої концентрації дихромату калію залишається на рівні контрольних значень. Однак, із підвищенням концентрації токсиканту 5,0–20,0 мг/дм³ наявна тенденція до зниження вмісту Т4 у крові на 3–6 %. Втім, таке зменшення було в межах похибки і може свідчити про те, що на 14-ту добу дихромат калію не мав істотного впливу на цей показник.

Встановлено концентраційнозалежний ефект фенолу на вміст Т4. Проте, за дії концентрацій фенолу 0,01 та 1,0 мг/дм³ зміни були невірогідні, лише за дії 5,0 мг/дм³ фенолу вміст Т4 зростав на 7 % ($p > 0,1$) відносно контролю (Рис. 3.3.2.). Як відомо, високий вміст кортизолу може спричинити підвищення вмісту Т4 у плазмі крові різних видів риб [324], який є прогормоном, що необхідний для утворення Т3. Цей гормон регулює у риб низку важливих функцій: ріст, осморегуляцію, процеси споживання кисню, обмін речовин та метаморфози [291].

Отже, спостерігається протилежний характер змін вмісту Т4, за впливу дихромату калію та фенолу в риб. Це пов'язано із специфікою токсичної дії цих речовин на організм.



А



Б

Рис. 3.3.2. Вміст тироксину в плазмі крові гірчака за дії дихромату (А) та фенолу (Б), $M \pm m$, $n=5-10$.

Вміст глюкози в плазмі крові риба за концентрацій дихромату калію 2,5; 5,0 та 10,0 мг/дм³ має тенденцію до зменшення на 10; 7 та 3 % ($p > 0,1$) відповідно, а за найбільшої концентрації (20,0 мг/дм³) її вміст зростає на 18 % відносно контролю ($p < 0,1$) (Рис. 3.3.3). Коливання вмісту глюкози у плазмі свідчить про активну секрецію гормонів у русло крові [120].

Проте, у гірчака за дії фенолу в концентрації 0,01; 0,1; 1,0 та 5,0 мг/дм³ вміст глюкози в плазмі крові збільшується на 1,5; 20,0; 20,7 та 28,0 % відповідно, відносно контролю. Це може бути пов'язаним із надмірним використанням енергетичних сполук за підвищеного рівня фенолу в процесах пристосування до діючого чинника.

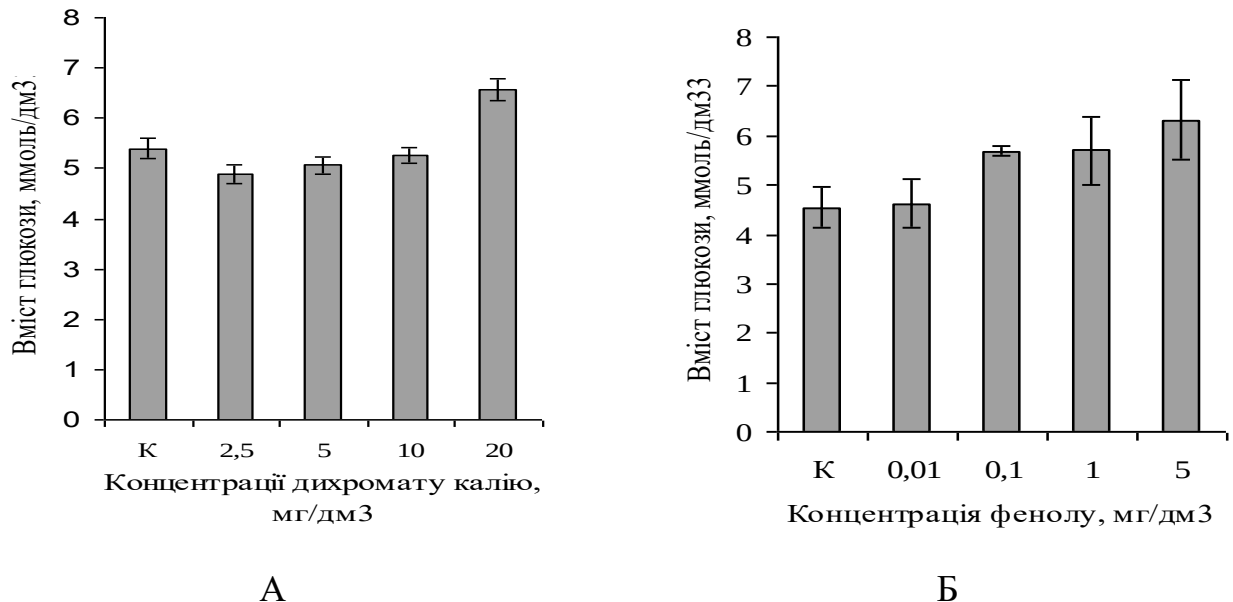


Рис. 3.3.3. Вміст глюкози в плазмі крові гірчака за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), $M \pm m$, $n=5-10$.

Такі результати можуть вказувати на те, що за високих концентрацій дихромату калію відбувається перехід на використання інших енергоємних сполук, зокрема білків та ліпідів.

Це може вказувати на те, що пристосування гірчака до дії дихромату калію вимає залучення більшої кількості енергетичних речовин, ніж до дії фенолу.

3.4. Вплив референтних токсикантів на активність ферментів енергетичного та фосфорного обмінів у риб.

Вплив дихромату калію та фенолу на активність ЛДГ, СДГ та ЛФ у гірчака європейського. За результатами досліджень було встановлено, що за дії дихромату калію у концентраціях: 2,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³ активність ЛДГ зростає у м'язах гірчака на 39,3; 38,7; 36,4 та 19,2 % відповідно відносно контролю. За дії фенолу в концентраціях 0,01; 0,1; 1,0 та 5,0 мг/дм³ спостерігали ще більше зростання активності цього ферменту в 7,35; 22,38; 80,12 та 80,47 % відповідно, щодо контрольної групи риб.

Отриманні результати вказують на те, що фенол більше уразив м'язову тканину риб, ніж дихромат калію, який здатен до накопичення. Значне зростання активності ЛДГ у тканинах м'язів гірчака може свідчити на користь того, що за впливу фенолу відбувається порушення процесів клітинного дихання, що може супроводжуватись тканинною гіпоксією. На противагу цьому, за найбільшої концентрації дихромату калію (20,0 мг/дм³) активність ЛДГ досягає контрольних значень.

У зябрах активність ЛДГ за дії дихромату калію у концентраціях 2,5; 5 та 10 мг/дм³ збільшилась на 43,4; 41,0 та 37,3 %, а за дії фенолу в концентраціях 0,01; 0,1 та 1 мг/дм³ – на 21,3; 20,5; 24,1 % відповідно щодо контролю. Збільшена активність ферменту за дії обох токсикантів може вказувати на їх інтенсивний вплив на респіраторний апарат піддослідних риб. Проте, активність ЛДГ у експериментальних групах із найбільшою концентрацією дихромату калію (20,0 мг/дм³) та фенолу (5,0 мг/дм³) у обох випадках знизилась у 3,5 та у 3,0 рази відповідно щодо контролю. Така реакція могла відбутися через пошкодження клітин епітелію зябер внаслідок хімічного опіку, що у подальшому відображалось на життєздатності піддослідних риб та викликало збільшення летальних випадків під час експерименту.

У тканинах печінки, як основного органу, де проходять процеси трансформації токсикантів та їх детоксикації, за дії дихромату калію у заданих концентраціях (2,5-20 мг/дм³) зростає активність ЛДГ на 32,5; 55,0; 51,0 %, а за

дії фенолу у концентраціях 0,01-5 мг/дм³ на 60; 57; 76 та 71 %, відповідно щодо контролю (Рис. 3.4.1.). Це вказує на необхідність залучення більшої кількості енергії на пристосувальні процеси шляхом посилення гліколізу. Крім того, відомо, що процеси детоксикації є енергозатратними, що також спричиняє суттєві зміни у активності ферментів енергетичного обміну риб.

Отримані результати щодо зміни активності ЛДГ співпадають з літературними даними [313], оскільки у зябрах дослідних риб також спостерігалась найвища висока активність цього ферменту. Крім того, іншими дослідниками було встановлено тенденцію до накопичення хрому в білих м'язах риб [180], що може бути причиною негативного впливу на енергетичні процеси у цій тканині (збільшення активності ЛДГ), а також її функціональну здатність під дією зовнішніх чинників середовища існування.

Найвища активність СДГ за впливу різних концентрацій дихромату калію спостерігалась у зябрах та м'язах піддослідних риб. Так, у зябрах активність ферменту зросла на 22,0; 39,0; 40,3 % відносно контролю за впливу токсиканту у концентраціях 2,5–10 мг/дм³. Це може вказувати на значний вплив дихромату калію на функціонування респіраторного апарату в піддослідних групах риб.

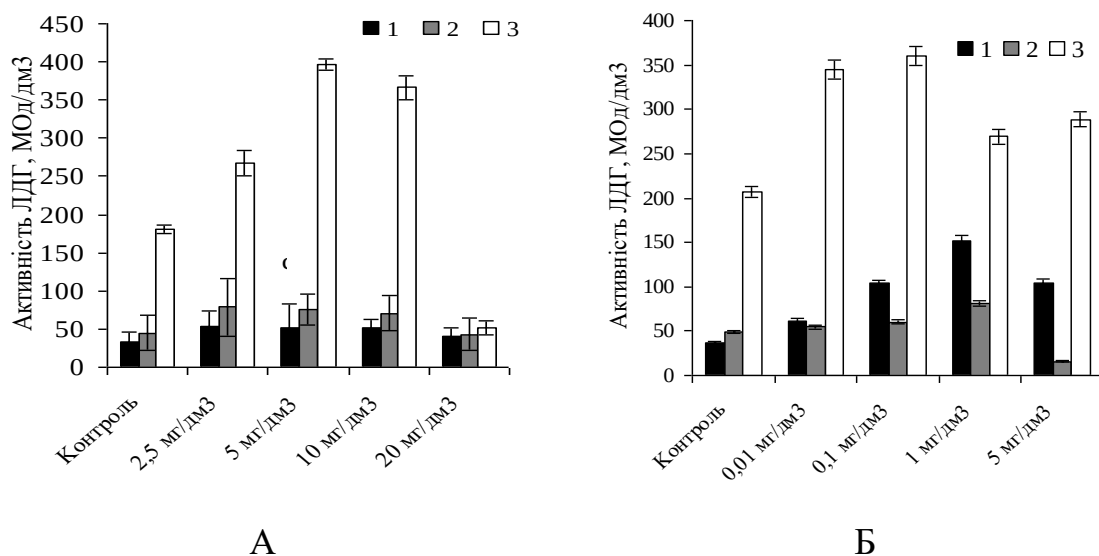


Рис. 3.4.1. Активність лактатдегідрогенази у м'язах (1), зябрах (2), та печінці (3) гірчака європейський за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), М+m, n=5–8.

Можливо, це пов'язано з гальмуванням циклу трикарбонових кислот.

У м'язах за дії дихромату калію активність СДГ за концентрації 5,0 мг/дм³ знижується на 10 %, а за концентрації 10,0 мг/дм³ зростає на 41 %, проте за найбільшої та найменшої концентрацій (2,5 та 20,0 мг/дм³) наближена до контрольних значень, відповідно щодо контролю (Рис. 3.4.2).

Було встановлено, що за дії фенолу (1,0 мг/дм³) активність СДГ у зябрах риб зросла у 2 рази відносно контролю. Проте, за концентрацій 0,01; 0,1 та 5,0 мг/дм³ у зябрах риб активність СДГ була меншою, ніж у контролі на 21; 42,5 та 45 %. Можливо такі результати вказують на те, що низькі концентрації фенолу мало впливають на зябра риб, але висока концентрація призводить до ураження клітин зябрового епітелію, що позначається на пригніченні активності ферменту СДГ.

У м'язах риб активність цього ферменту зросла відносно контролю пропорційно концентрації токсиканта у 3,6; 3,7; 3,5 та 2,2 разів ($p < 0,05$).

Було встановлено, що за дії фенолу в концентраціях 0,01; 0,1 та 1,0 мг/дм³ у тканинах печінки активність СДГ зростає відносно контролю на 5,5; 50,0 та 13,5 %. Проте, за максимальної концентрації фенолу (5,0 мг/дм³) активність цього ферменту знизилась у 3 рази.

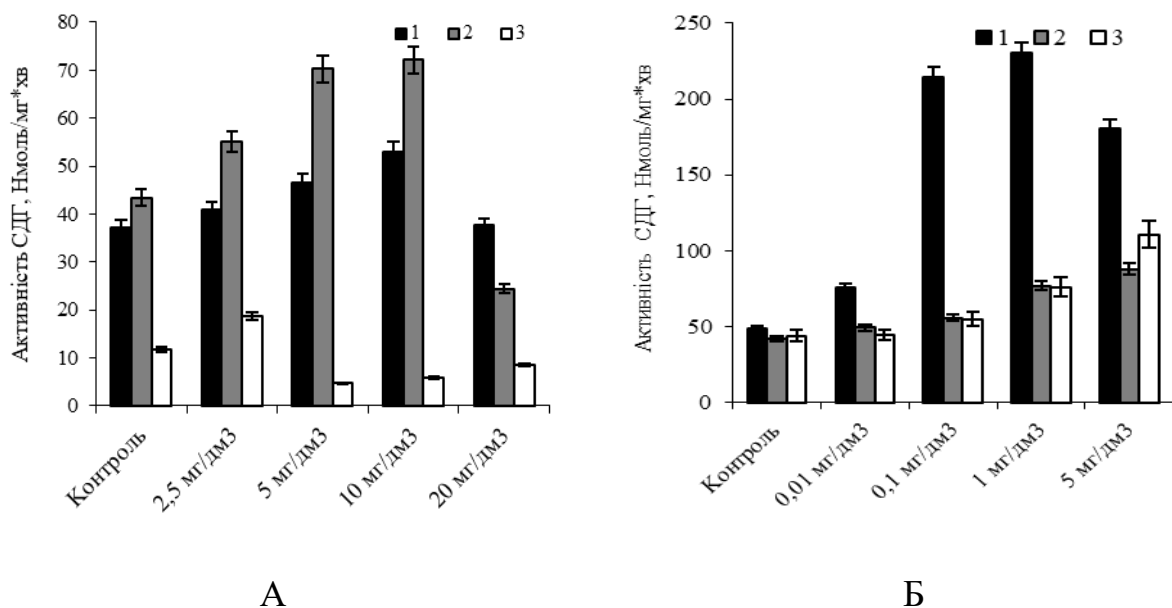


Рис. 3.4.2. Активність сукцинатдегідрогенази у м'язах (1), зябрах (2), та печінці (3) гірчака за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), М+м, n=5–8.

Відомо, що активність ЛФ у тканинах риб істотно змінюється при надходженні токсикантів різної хімічної природи у водне середовище, тому цей показник використовують як надійний індикатор хімічного стресу [253].

Встановлено, що активність лужної фосфатази (ЛФ) у тканинах м'язів гірчака за концентрацій 2,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³ дихромату калію знижується на 1,1; 1,3; 5,0 та 5,1 разів відповідно відносно контролю.

У тканинах печінки також відбувається зниження активності цього ферменту в 3,9; 4,0; 3,0 та 2,0 разів відносно контролю. Перш за все, значне зниження активності ЛФ за найвищої концентрації у тканинах печінки може вказувати на суттєві енергозатратні процеси і послаблення метаболічних реакцій у цьому органі у післястресовому стані.

Ймовірно, це також може свідчити про послаблення процесів детоксикації печінкою за високих концентрацій досліджуваних токсикантів, що супроводжувалося зростанням летальних випадків серед піддослідних риб (див. підрозділи 3.1.1. та 3.1.3).

Зниження активності ЛФ може бути обумовлено накопиченням дихромату калію у тканинах печінки. Можливо, саме це й відбувалось у тканинах м'язів та печінки за найвищої концентрації цього токсиканту та відобразилось на функціональній активності зазначених тканин.

У зябрах, за найменшої концентрації дихромату калію спостерігалось зростання активності ЛФ на 18%, проте зі збільшенням концентрації токсиканту прослідковується зменшення її активності на 7,0; 27 % ($p > 0,1$) та 2,8 рази ($p < 0,05$) при концентраціях 5,0; 10,0; 20,0 мг/дм³ відносно контролю (Рис. 3.4.3.). Це вказує на послаблення процесів фосфорилювання, що може призводити до зниження синтезу й прискорення розпаду енергоємних сполук [137].

Отримані нами результати узгоджуються з літературними даними щодо активності ЛФ за дії дихромату калію у інших видів риб, зокрема *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) та *Salmo gairdneri* (Richardson, 1836) [188].

Також активність ЛФ знижується і за дії інших токсичних речовин, зокрема за впливу ртуті у *Solea senegalensis* (Каур, 1858) та *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) [279]. Це свідчить про однотипність реакцій риб не залежно від їхньої видової приналежності.

У свою чергу, зростання активності ЛФ у зябрах риб за сублетальної концентрації може бути спробою організму забезпечити нормальне функціонування респіраторного апарату за рахунок посилення процесів фосфорилювання, адже зябра безпосередньо контактують із навколишнім середовищем.

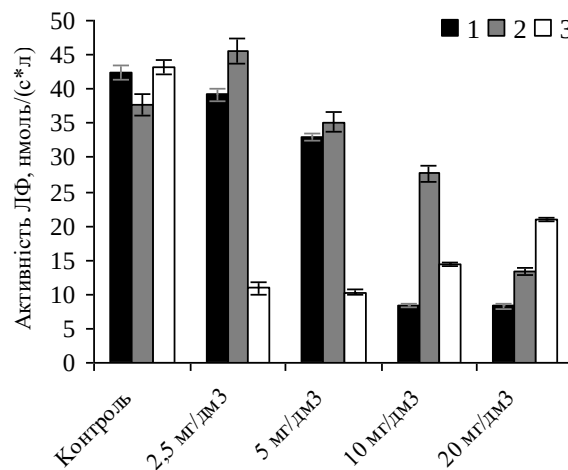


Рис. 3.4.3. Активність лужної фосфатази у зябрах (1), печінці (2), та м'язах (3) гірчака європейського за дії дихромату калію, $M+m$, $n=5-8$.

Згідно результатів досліджень було встановлено протилежний характер змін активності ЛФ за дії фенолу.

Так, активність ЛФ збільшилась відносно контролю у всіх органах та тканинах відповідно до заданих концентрацій (0,01-5 мг/дм³): у м'язах в 1,6; 4,6; 4,7 та 3,6 разів; зябрах – на 85; 75; 55 та 48 % (Рис. 3.4.4.).

У тканинах печінки за найменшої концентрації (0,01 мг/дм³) фенолу достовірних відмінностей у активності ЛФ встановлено не було.

Проте, зі зростанням концентрацій фенолу встановлено зростання активності ферменту на 20, 42 та 60 % відносно контролю.

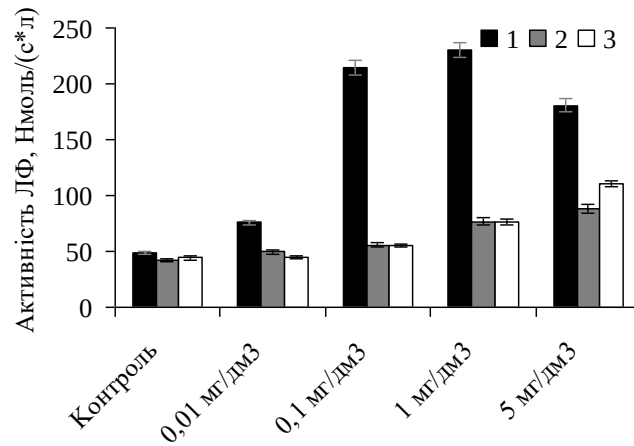
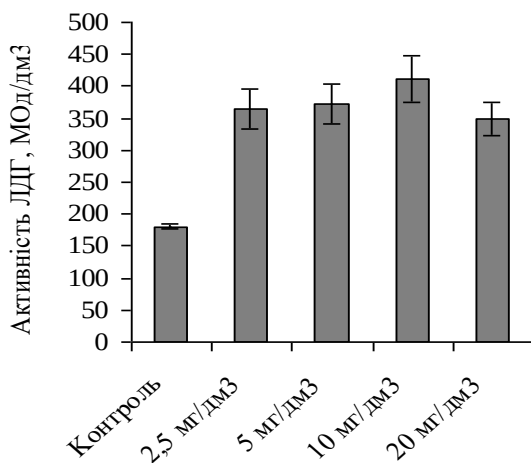
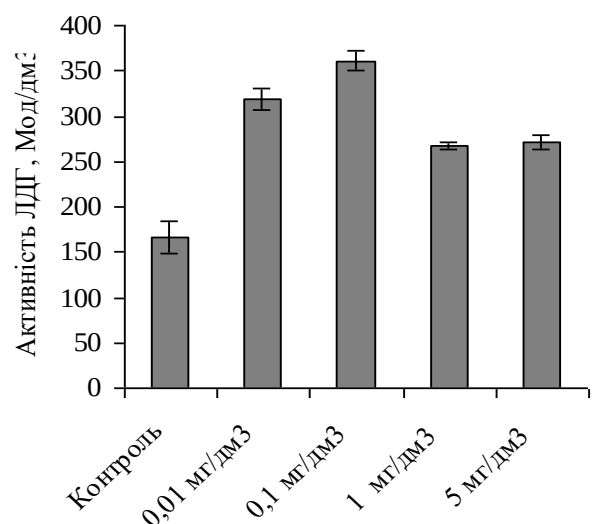


Рис. 3.4.4. Активність лужної фосфатази у м'язах (1) зябрах (2) та печінці (3) гірчака європейського за дії фенолу (M+m, n=5–8)

Вплив дихромату калію та фенолу на активність ЛДГ, СДГ та ЛФ у амурського чебачка. За результатами досліджень було встановлено, що за дії дихромату калію (2,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³) та фенолу (0,01; 0,1; 1,0 та 5,0 мг/дм³) активність ЛДГ у м'язовій тканині амурського чебачка зростає відносно контролю на 50,59; 51,55; 56,25 та 48,20 % та на 47,3; 53,6; 37,4 % порівняно до контролю (Рис. 3.4.5.).



А



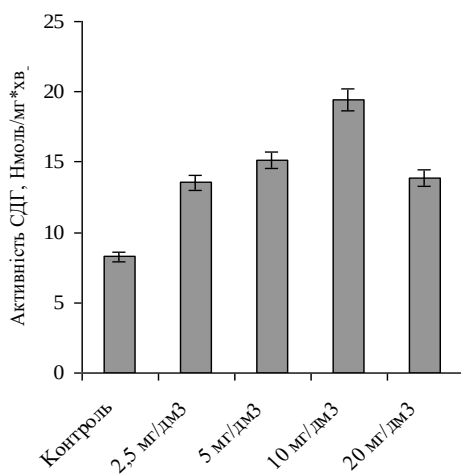
Б

Рис. 3.4.5. Активність лактатдегідрогенази у м'язах чебачка за дії дихромату калію (А) та у м'язах чебачка за дії фенолу (Б). (M+m, n=5–8)

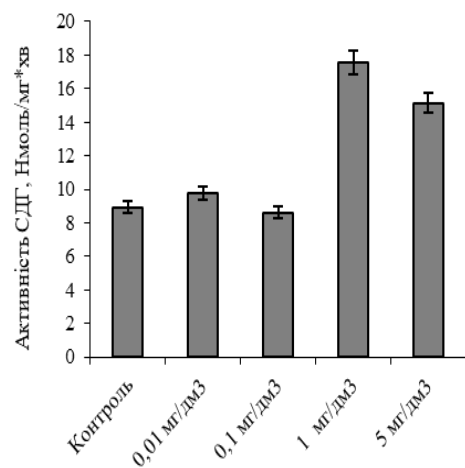
Ці зміни можуть свідчити про інтенсивність гліколітичних процесів при ураженні зазначеними токсикантами, які необхідні для залучення додаткової кількості енергії при подоланні токсичного впливу.

У м'язах чебачка за впливу дихромату калію спостерігали концентраційнозалежний ефект, який відобразився у збільшенні активності СДГ на 39,0; 45,3; 57,5 та 40,0 % ($p < 0,05$) відносно контролю (Рис. 3.4.1.4). Це можна розглядати як наслідок активації окиснення сукцинату, який забезпечує належне функціонування дихального ланцюга в циклі Кребса за токсичної дії зазначеного токсиканту.

За дії фенолу в дослідних концентраціях активність ферменту в м'язах за нижчої та середньої концентрацій фенолу (0,01 та 1,0 мг/дм³) була вищою, ніж у контролі на 9,0 та 49,1 %, проте за середньої та найбільшої концентрацій (0,1 та 5,0 мг/дм³, відповідно) активність СДГ була меншою, ніж у контролі на 3,4 % ($p > 0,1$) та 41,1 % (Рис. 3.4.6.). Це може вказувати на послаблення інтенсивності функціонування циклу трикарбонових кислот, що пов'язано з хімічними властивостями фенолу та явищем ендогенної гіпоксії, яка спричинена дією зазначеного токсиканту. Зростання активності СДГ вказує на збільшення потреб у додаткових енергоресурсах дослідженої тканини риб.



А



Б

Рис. 3.4.6. Активність сукцинатдегідрогенази у м'язах чебачка за дії дихромату калію (А) та у м'язах (1), зябрах (2), та печінці (3) чебачка за дії фенолу (Б). (М+m, n=5–8)

Було встановлено, що активність ЛФ у м'язах риб за дії різних концентрацій дихромату калію ($2,5\text{--}20\text{ мг/дм}^3$) була вищою, ніж у контролі на 4,3; 30,8 та 2,4 %. Проте, за найбільшої його концентрації (20 мг/дм^3) достовірної відмінності щодо контролю виявлено не було. За впливу фенолу в концентрації $0,01\text{--}5\text{ мг/дм}^3$ активність ЛФ на 54,3; 56,7; 55,1 та 9,5 % більше, відносно контролю (Рис. 3.4.7.). Це може пояснюватись тим, що токсичні речовини, впливаючи на організм риб призводять до використання енергоємних сполук, що супроводжується активацією процесів фосфорилювання. Вочевидь, це вказує на активне залучення відповідних процесів для забезпечення механізмів протидії тканин м'язів до негативної дії сполук фенолу.

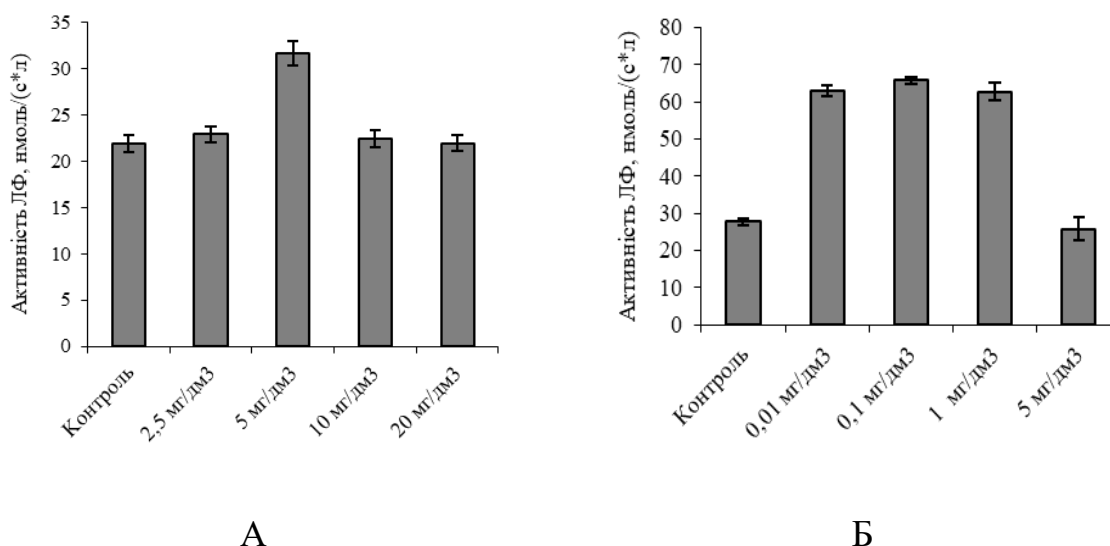


Рис. 3.4.7. Активність лужної фосфатази у м'язах чебачка за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), $M+m$, $n=5\text{--}8$.

3.5. Вплив дихромату калію та фенолу на активність ферментів азотного обміну риб.

Вплив дихромату калію та фенолу на активність амінотрансфераз та ГДГ у гірчака. Було встановлено, що активність АсАТ у тканинах печінки та м'язів гірчака за дії дихромату калію зростала відносно контролю відповідно до підвищення концентрацій токсиканту ($2,5$; $5,0$; $10,0$ та $20,0\text{ мг/дм}^3$) у 1,05; 1,10; 1,77 та 2,7 разів та у 1,02; 1,81; 3,28 та 3,22 разів (Рис. 3.5.1.). Збільшення

активності АсАТ пов'язане із токсичною дією дихромату калію, що викликає необхідність продукування додаткової енергії завдяки включенню амінокислот у цикл трикарбонових кислот.

На противагу цьому, активність АлАТ у тканинах печінки за концентрації 2,5 мг/дм³ дихромату калію зростала у 3,1 разів з подальшим її зниженням до контрольних значень по мірі підвищення концентрацій токсиканту.

Так, за концентрацій дихромату калію 2,5; 5,0 та 10,0 мг/дм³ активність ферменту перевищувала контрольні величини у 3,1; 2,2 та 1,6 рази (Рис. 3.5.2). Це може свідчити на користь різної інтенсивності використання амінокислот як додаткових енергетичних сполук залежно від концентрації дихромату калію.

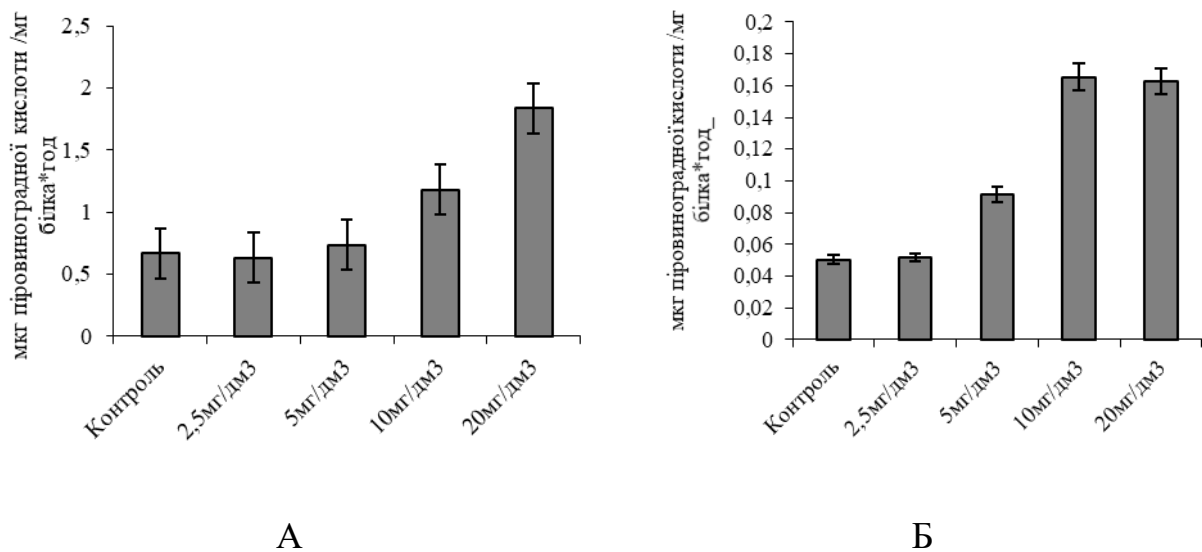


Рис. 3.5.1. Активність аспартатамінотрансферази у печінці (А) та м'язах (Б) гірчака за дії дихромату калію, М+m, n=5–8.

Також, це може вказувати на значне використання амінокислот як джерела енергії у клітинах печінки у процесах детоксикації дихромату калію. Зменшення активності АлАТ може вказувати на високий рівень ушкодження клітин печінки, викликаного токсичною його дією.

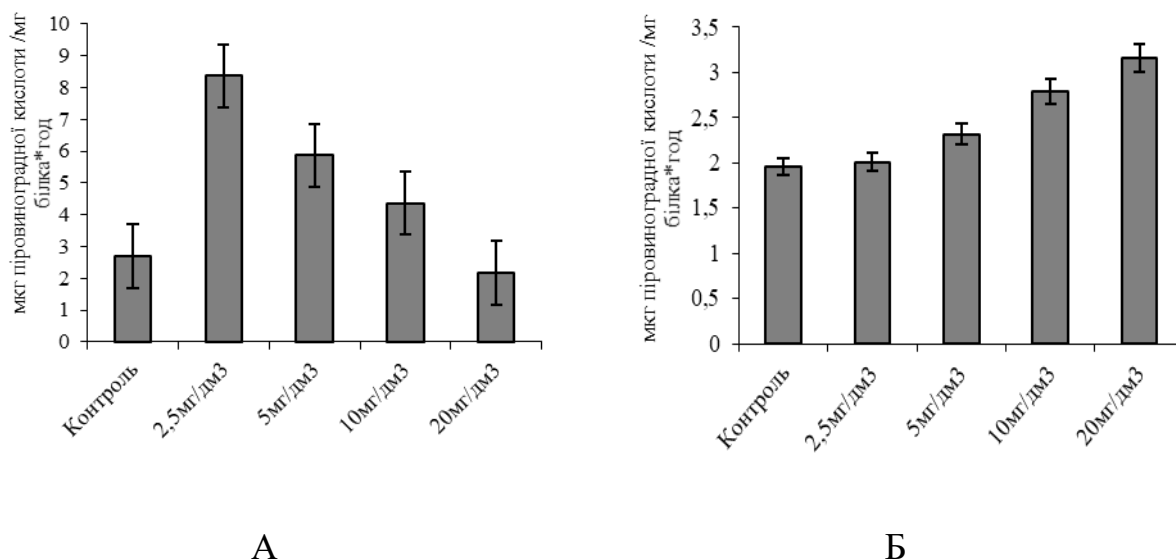


Рис. 3.5.2. Активність аланінамінотрансферази у печінці (А) та м'язах (Б) гірчака за дії дихромату калію, М+м, n=5–8.

На противагу дихромату калію, фенол мав протилежну дію на активність АсАТ у тканинах печінки гірчака. Так, активність цього ферменту за найменшої концентрації фенолу ($0,01 \text{ мг/дм}^3$) була вищою, ніж у контролі на 47,7 %. Проте, за більших концентраціях зазначеного токсиканту ($0,1$; $1,0$ та $5,0 \text{ мг/дм}^3$) активність АсАТ концентраційнозалежно зменшувалась на 36,5; 21,0 ($p < 0,05$), та 4,5 % ($p > 0,1$), але залишалась вищою відносно контролю.

Відомо, що АсАТ – ключовий фермент метаболізму азоту, тому зміна його активності може вказувати на спрямованість азотного обміну, а також на функціональний стан клітин печінки [319]. За заданих концентрації фенолу ($0,01$ - 5 мг/дм^3) у м'язовій тканині чебачка активність цього ферменту була відповідно у 1,6; 3,2; 5,2 та 5,3 разів нижча, ніж у контролі (Рис. 3.5.3). Це може вказувати на те, що високі концентрації фенолу можуть негативно впливати на клітини м'язів риб, зокрема процеси перерозподілу білкових сполук в наслідок ймовірної їх інтоксикації сполуками фенолу.

Встановлено, що активність АЛАТ у тканинах печінки гірчака європейського змінювалася у протилежному напрямку від активності АсАТ. Це виражалось у підвищенні активності цього ферменту відносно контролю на 5,2 ; 19,7; 26 та 48 % ($p < 0,1$) відповідно по мірі підвищення концентрації токсиканту (Рис. 3.5.4).

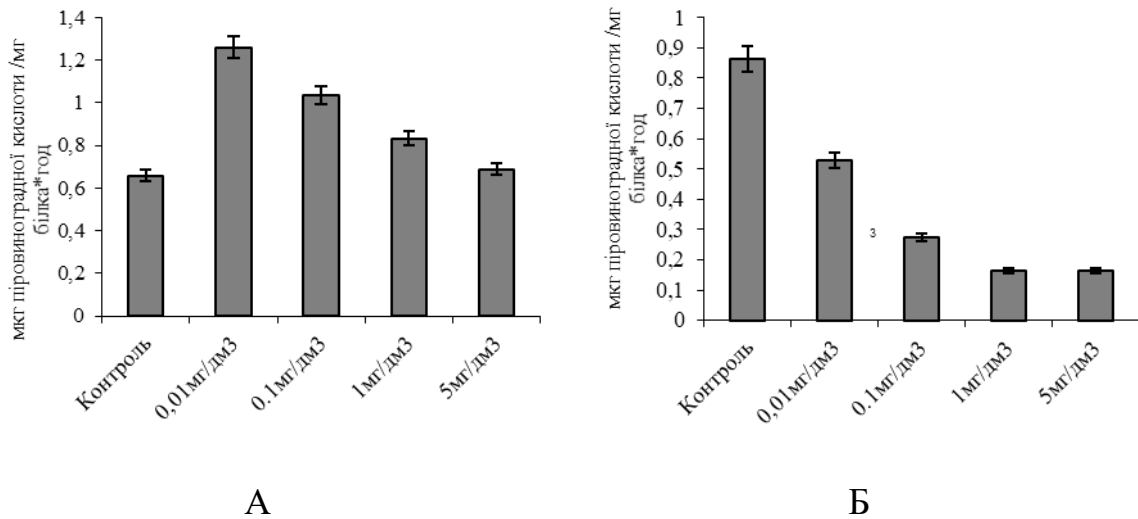


Рис. 3.5.3. Активність аспартатамінотрансферази у печінці (А) та м'язах (Б) гірчака за дії фенолу, $M+m$, $n=5-8$.

Разом з тим, у тканинах м'язів риб із всіх дослідних концентрацій активність ферменту була вище, ніж у контролі на 25-28,6%. Це може вказувати на те, що зі збільшенням токсичного впливу риbam необхідно залучати більшу кількість енергії для подолання стресу, викликаного токсичним впливом фенольних сполук.

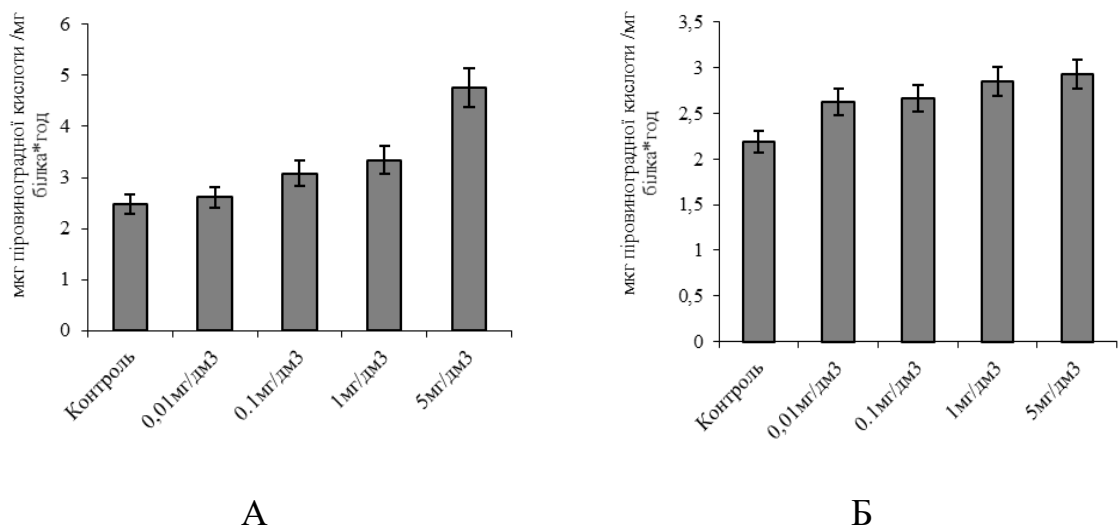


Рис. 3.5.4. Активність аланінамінотрансферази у печінці (А) та м'язах (Б) гірчака за дії фенолу, $M+m$, $n=5-8$.

Аналогічні результати були отримані [329] за дії фенольних сполук на організм мозамбікської тиліпії, де зазначалось, що зростання активності АЛТ у тканинах печінки та м'язів пов'язане з реакцією на токсичний стрес, а зростання активності цього ферменту пояснювали утворенням кетокислот

необхідних для посилення реакцій глюконеогенезу (утворення енергоресурсів для задоволення організму в надлишковій кількості енергосполук).

Встановлено, що за дії дихромату калію та фенолу в піддослідних риб активність ГДГ була дещо вище, ніж у контролі. Так, за дії дихромату калію активність зазначеного ферменту була на 7,1; 10,0; 15,4 та 13,3 % ($p > 0,1$) вищою, ніж у контролі (Рис. 3.5.5.), а за впливу фенолу активність ГДГ у тканинах печінки риб зростала у 3,0–3,2 ($p < 0,05$) разів порівняно до контролю. Оскільки низка амінокислот катаболізуються завдяки ГДГ, то активність цього ферменту вказує на швидкість, з якою відбувається катаболізм амінокислот. За дії обох видів токсичних речовин активність ГДГ була вищою, ніж у контролі. За впливу дихромату калію активність ГДГ збільшилась, але менше, ніж за дії фенолу, що може вказувати на підвищений рівень використання амінокислот, особливо за дії фенолу, які у подальшому можуть бути використаними за несприятливих умов та стресових чинників [177].

Надмірно-висока активність ГДГ у печінці гірчака за різних концентрацій фенолу в поєднанні з вищою, ніж у контролі, активністю АсАТ та АлАТ у цьому ж органі – може вказувати на посилення процесів окиснювального дезамінування білків, що необхідні для забезпечення існування у токсичному середовищі в умовах експерименту.

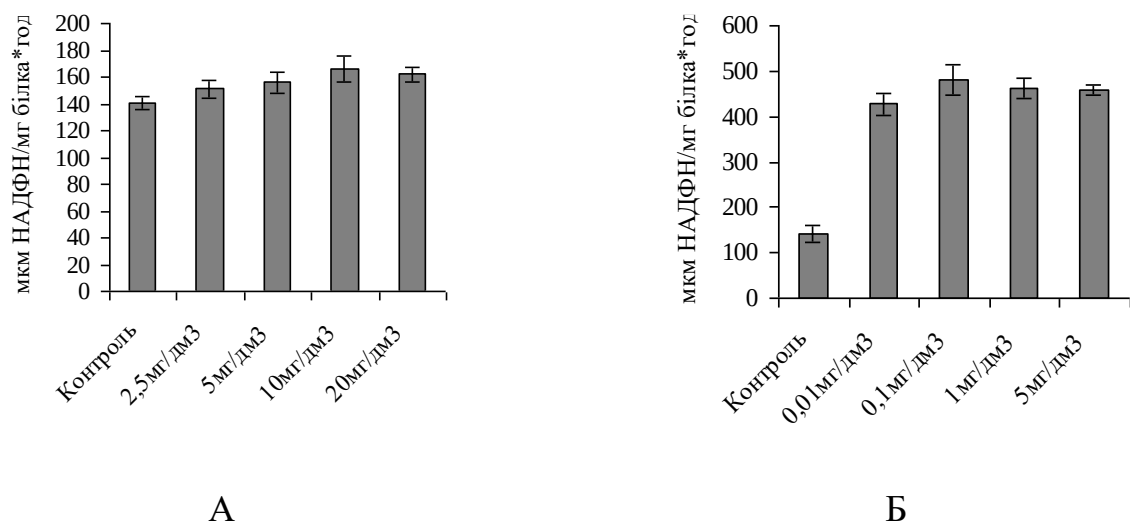


Рис. 3.5.5. Активність глутаматдегідрогенази у печінці гірчака за дії дихромату калію (А) та фенолу (Б), М+m, n=5–8.

Проте процес розщеплення білків супроводжується виділенням ендogenous аміаку, який зв'язується в глутамін за допомогою ГДГ, що й пояснює його високу активність [249, 267, 312]. Таким чином, за результатами досліджуваного маркерного показника, токсичне середовище у якому присутній дихромат калію, для гірчака виявився більш небезпечним, ніж дія фенолу, що можливо пов'язано зі здатністю токсиканта до накопичення.

Вплив дихромату калію та фенолу на активність амінотрансфераз у чебачка. Встановлено, що дія дихромату калію у концентраціях 2,5; 5,0 10,0 мг/дм³ призвела до зниження активності АсАТ у м'язовій тканині чебачка на 10,3; 11,0 та 8,0 % ($p > 0,1$) відповідно. Проте, за найбільшої концентрації 20,0 мг/дм³ активність зазначеного ферменту знизилась у 3,5 рази порівняно до контролю. Це може вказувати на ураження клітин м'язової тканини токсикантом. Разом із тим, у дослідній тканині м'язів спостерігалось збільшення активності АлАТ на 42; 23; 35 та 54 %, відповідно за концентрацій дихромату 2,5–20 мг/дм³ порівняно із контролем (Рис. 3.5.6).

Це вказує на необхідність у залученні більшої кількості енергії для протидії токсичному впливу дихромату калію. За найвищої концентрації токсичної речовини можливо проявлявся кумулятивний ефект у наслідок надмірного накопичення дихромату калію у тканинах м'язів.

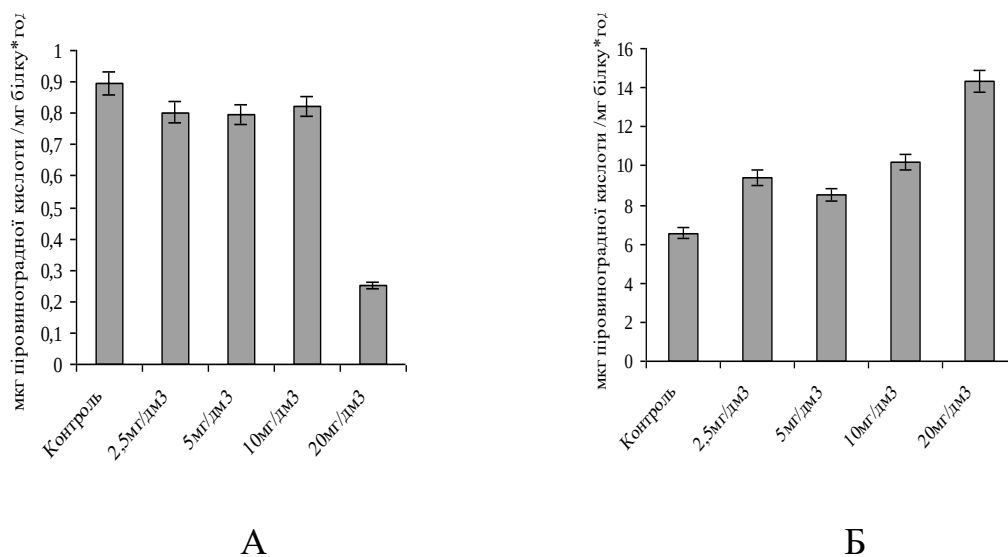


Рис. 3.5.6. Активність аспаратамінотрансферази (А) та аланінамінотрансферази (Б) у м'язах чебачка за дії дихромату калію, М+m, n=5.

Вплив фенолу на активність АсАТ у чебачка був протилежним дихромату калію, адже активність цього ферменту в тканинах м'язів риб по мірі збільшення концентрацій фенолу зростала в 1,7; 2,1; 83,6,09 та 9,25 разів відносно контролю (Рис. 3.5.7).

Аналогічні зміни були встановлені стосовно активності АлАТ. Активність цього ферменту зростала відносно контролю на 7,0; 50,7; 52,0 та 45,0 % зі збільшенням концентрації фенолу. Зростання активності досліджуваних амінотрансфераз відносно фенолу (0,01; 0,1; 1,0 та 5,0 мг/дм³) вказує на активну участь азотного обміну в подоланні токсичного стресу, викликаного ним.

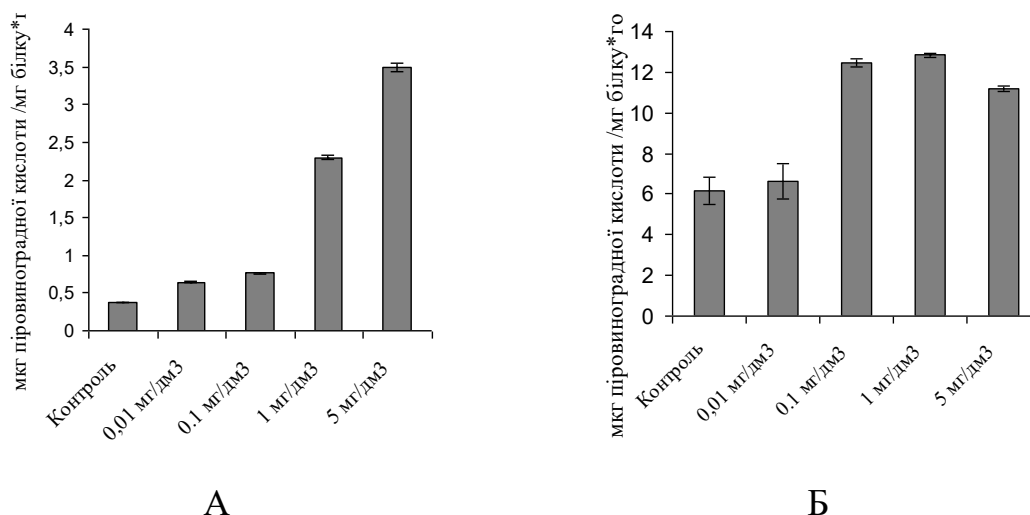


Рис. 3.5.7. Активність аспартатамінотрансферази (А) та аланінамінотрансферази (Б) у м'язах чебачка за дії фенолу, М+m, n=5.

Висновки до розділу 3

Таким чином, результати досліджень показали, що дихромат калію за концентрацій 2,5; 5,0,10,0 та 20,0 мг/дм³ та фенол за концентрацій 0,01; 0,1; 1 та 5 мг/дм³ мають суттєвий токсичний вплив на гірчака європейського та амурського чебачка.

При надходженні токсичних речовин у природному середовищі риби адекватно та своєчасно реагують, намагаючись мігрувати з токсичного

середовища, проте у модельних умовах вони цього зробити не можуть і перші ознаки отруєння проявляються на четверту годину після надходження дихроматом калію, а за впливу фенолу риби реагують у перші години отруєння.

Вибірки гірчака за найбільшої концентрації токсикантів за впливу дихромату калію та фенолу розподілились на три умовні групи: які гинуть за короткий проміжок часу (у перші 24 години) від завданого їм стресу, відсоток таких чутливих особин найбільший; витривалих, які гинуть через довший проміжок часу та на стійких, які завдяки специфічним фізіолого-біохімічним перебудовам в організмі успішно долають токсичне навантаження, відсоток цієї групи був найменшим – 9 та 12,0 %. Проте загибель чебачка відбувається поступово як за впливу дихромату калію так і за впливу фенолу. Разом з тим спостерігається суттєва відмінність у виживанні риб за найбільших концентрацій токсикантів – 6% за дії дихромату калію (20,0 мг/дм³) та 78% за дії фенолу (5,0 мг/дм³).

Можна зауважити, що у даному дослідженні піддольна група амурського чебачка, на відміну від гірчака, була більш стійкою до дії фенолу, ніж до дії дихромату калію.

На біохімічному рівні було встановлено, що у стійкої групи гірчака за дії дихромату калію та фенолу в плазмі крові збільшується вміст кортизолу, що вказує на те, що дослідні риби перебували у стресовому стані, для подолання якого риби активно використовували глюкозу як легкодоступну енергетичну сполуку, що вплинуло на зміни вмісту метаболізму риб і позначилось на зниженні вмісту тироксину в плазмі крові всіх піддольних груп гірчака за впливу дихромату калію, проте за впливу фенолу тироксин навпаки підвищився, що вказує на специфіку впливу діючих речовин.

Збільшення вмісту кортизолу в крові призвело до посилення активності ферментів енергетичного обміну задля залучення додаткової енергії, що необхідна дослідним риbam для підтримки нормального функціонування клітин органів та тканин за несприятливих умов.

За найбільшої концентрації дихромату калію та фенолу в гірчака та амурського чебачка спостерігалася найбільша смертність. Проте біохімічні

показники фізіологічного стану стійких груп гірчака та чебачка характеризувались значеннями, які були наближені до контрольних. Винятком була зменшення активності лужної фосфатази, що може вказувати на наявність виснаження організмів піддослідних риб.

Також у гірчака та чебачка за впливу різних концентрацій фенолу та дихромату калію зростає активність ферментів азотного обміну, що вказує на активне функціонування печінки та посилення білкового обміну в подоланні стресу та токсикозу.

Отримані результати вказують на високу резистентну можливість гірчака та чебачка. Натомість амурський чебачок характеризувався меншою стійкістю до дії летальних та сублетальних концентрацій дихромату калію, ніж гірчак. Отримані результати підтверджують здатність дослідних видів існувати у водоймах, що зазнають дії негативних чинників навколишнього середовища. Це стає можливим шляхом відбору стійких особин, які у подальшому можуть сформувати резистентну популяцію у тому числі при посиленому антропогенному забрудненні. Натомість, у природних умовах на риб впливає комплекс різних чинників і токсичні речовини можуть посилювати чи послаблювати свою дію на організм гідробіонтів, а їх концентрації можуть змінюватись залежно від пори року. Саме через це, був проведений наступний експеримент із дослідження фізіолого-біохімічного стану карася сріблястого, що існував у різний проміжок часу в забруднених сполуками азоту водоймах на які впливають природні чинники навколишнього середовища. Це необхідно для більш глибокого розуміння процесу пристосування коропових риб до не типових або екстремальних умов існування. Саме вивченню зазначених особливостей і буде присвячений наступний розділ дисертації, а для дослідження був обраний широко-розповсюджений вид, що має високі пристосувальні ознаки – карась сріблястий.

Основні положення розділу викладено у наступних публікаціях: [61, 63, 64, 67].

РОЗДІЛ 4

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО ДО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ АМОНІЙНИМ АЗОТОМ

Процес росту риб у значній мірі залежить від дії абіотичних та біотичних факторів середовища і зростання організму характеризує специфіку способу життя риб [43]. Нами було встановлено, що дворічки карася із забруднених амонійним азотом водойм характеризувались меншими розмірно-масовими показниками (Табл. 4.1.), ніж карась, який існував у відносно чистих ставках.

Таблиця 4.1.

Довжина та маса карася сріблястого із водойм з різними концентраціями амонійного азоту, $M \pm m$, $n=25-30$.

Показник	2,5 мг N/дм ³	24,0 мг N/дм ³	24,3 мг N/дм ³	48,0 мг N/дм ³
Вік риб	2 ⁺	2 ⁺	2 ⁺	2 ⁺
Довжина риби (L), см	17,2±0,3	16,4±0,8	14,4±0,6	11,5±0,36
Загальна маса риб (M), г	78,0±8,4	72,8±8,6	54,8±5,2	27,9±0,01

Виходячи з наведеної таблиці, розмір та маса піддослідних карасів залежала від терміну перебування та концентрації сполук азоту.

Так, особини карася із 1-ї (контрольної) групи мали середню довжину тіла 17,2 см та загальну масу 78,0 г, особини 2-ї групи – 16,4 та 72,8 відповідно, 3-ї групи – 14,4 та 54,8, а із 4-ї групи – 11,5 см та 27,9 г. Виходячи з цього, карась із 4-ї піддослідної групи мав найменший лінійний ріст та масу, ніж риби з інших груп. Відповідно, група риб із меншим часом перебування у забрудненої водойми мала перевагу в масі тіла на 37% порівняно з карасем, який жив впродовж 3-х років у водоймі з високими концентраціями амонійного азоту. Це також знаходить своє відображення у коефіцієнтах вгодованості, які зазвичай використовують як кількісну характеристику, яка свідчить про наявність або відсутність сприятливих умов для існування риб, зокрема наявності достатньої кількості кормових об'єктів [7].

З огляду на це, для об'єктивної оцінки фізіологічного стану риб були проведені розрахунки коефіцієнтів вгодованості за Фультоном і Кларк. Так, вірогідної відмінності за коефіцієнтами Фультона та Кларк між карасем із контрольної водойми та рибами з 2-ї групи встановлено не було. Проте, у карася з 3-ї та 4-ї груп (із середнім та найдовшим терміном існування при високих концентраціях амонійного азоту) коефіцієнт за Фультоном був меншим на 16 та 17 %, а за Кларк на 16% (3-тя група). У риб із найдовшим терміном існування у забрудненій водоймі суттєвих відмінностей за вгодованістю за Кларк відносно контрольної групи риб встановлено не було (Рис. 4.1.).

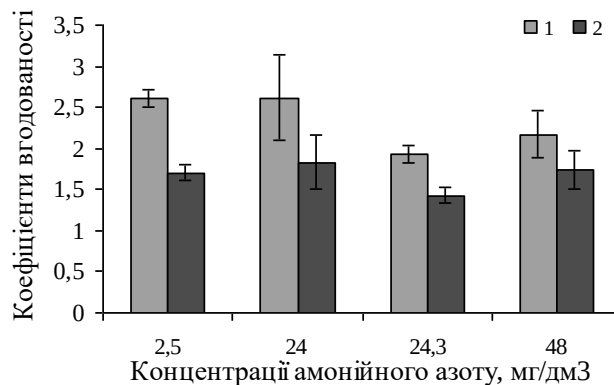


Рис 4.1. Коефіцієнт вгодованості карася під впливом підвищених концентрацій сполук азоту за Фультоном (1) та за Кларк (2), $M \pm m$, $n=25-30$.

Відомо, що індивідуальна абсолютна плодючість може вказувати на загальний фізіологічний стан (статевозрілих риб). Цей показник свідчить про якісні та кількісні характеристики ікри які, в свою чергу, мають істотний вплив на життєстійкість потомства та в цілому визначають стан та продуктивність популяції у наявних умовах існування [118].

Встановлено, що у піддослідних групах карася, які по мірі тривалості перебування (3 місяці, 3 роки, та 20 років) та зі збільшенням концентрацій амонійного азоту (до 24,0; 24,3 та 48,0 мг N/дм³ відповідно) абсолютна плодючість була вищою на 36,4; 34,9 та 58,8 % відповідно, щодо умовного контролю (Рис. 4.2). Це можна розглядати як пристосувальну реакцією риб до

незадовільних умов існування, адже таким чином збільшуються шанси на кількісне виживання особин, які зможуть залишити потомство та забезпечити стабільність популяції.

Разом з тим, було встановлено, що гонадосоматичний індекс (ГСІ) у карася із усіх піддослідних груп був нижчим на 44,7; 52,5 та 69,5 % відповідно по відношенню до контролю. Це може вказувати на різні терміни проходження нересту в риб, а також на вплив сполук азоту на репродуктивну систему карася.

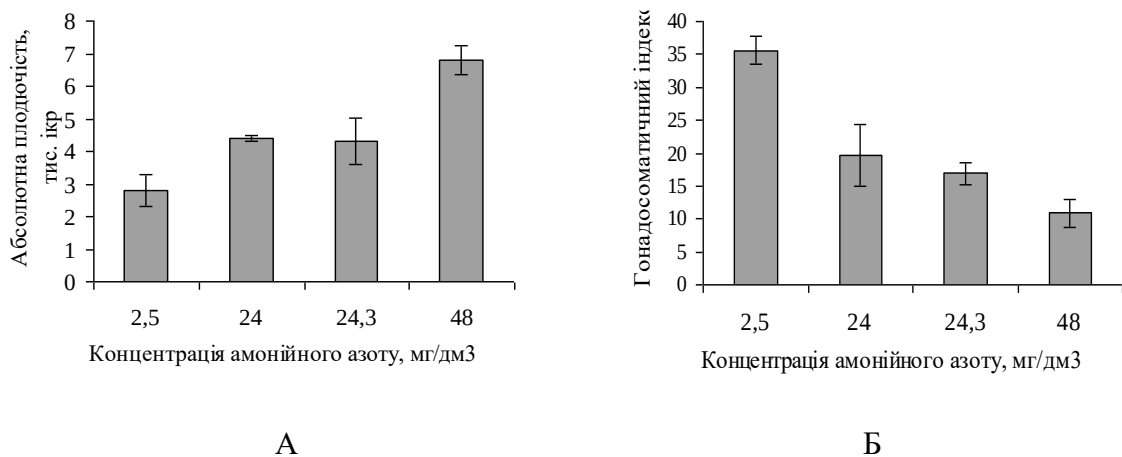


Рис. 4.2. Абсолютна плодючість (А) та гонадосоматичний індекс (Б) карася під впливом сполук азоту, $M \pm m$, $n=15-20$.

Як відомо, розміри внутрішніх органів залежать від довжини та маси тіла риб, їх фізіологічного стану, а індекси внутрішніх органів можуть істотно змінюються залежно від зовнішніх умов. За їх величиною можна оцінити як фізіологічний стан риб, так якість водного середовища [163].

Дослідження структури печінки та зміни її параметрів, зокрема розмірів, кольору та консистенції, дають можливість отримати інформацію оцінки фізіологічного стану організму [24, 58]. Крім того, певною мірою, це може вказувати на патологічні зміни в організмі риб, які перебувають в умовах хронічного забруднення водойм [24, 116, 237].

Встановлено, що індекси печінки особин карася, які перебували у водоймі протягом 3 місяців та 20-ти років за концентрацій 24 та 48 мг N/дм³ амонійного азоту відповідно (групи № 2 та № 4), були меншими на 8,0 та 22,7 % ($p > 0,1$)

відповідно, ніж у контролі. Проте, карась, який перебував у водоймі 3 роки (група № 3), мав вищий індекс печінки на 13,5 % відносно контролю. Це може вказувати на структурно-функціональні зміни у клітинах печінки, які відбулись за тривалого існування у забруднених азотними сполуками водоймах (Рис. 4.3).

Згідно літературних даних, збільшення індексу печінки може бути пов'язаним зі зростанням енерговитрат на забезпечення нормальних процесів життєдіяльності риб, зокрема при посиленні процесів детоксикації токсичних сполук, які надходять до організму риб [48]. Відомо, що індекс селезінки (органу формування елементів крові, депо крові, тощо) також у значній мірі залежить від екологічних умов, де існують риби [49].

За результатами досліджень, індекси селезінки у риб з 2-ї та 3-ї груп дещо схожі з індексами печінки. Оскільки, у риб з 2-ї групи індекс селезінки був меншим від контролю на 26,7%, а у 3-й групі риб із середньою тривалістю перебування у забрудненій водоймі індекс селезінки був меншим у 2,6 рази, щодо контролю. Схожі результати були отримані у інших авторів, які досліджували вплив амонійного азоту на індекси селезінки у строкатого товстолоба [118]. Проте у карася з 4-ї групи індекс цього органу був на 22,2 % більшим, порівняно з контролем. Наближення цих показників до контрольних значень (1-ї групи), може свідчити про часткове пристосування карася з цієї групи риб до впливу азотного навантаження.

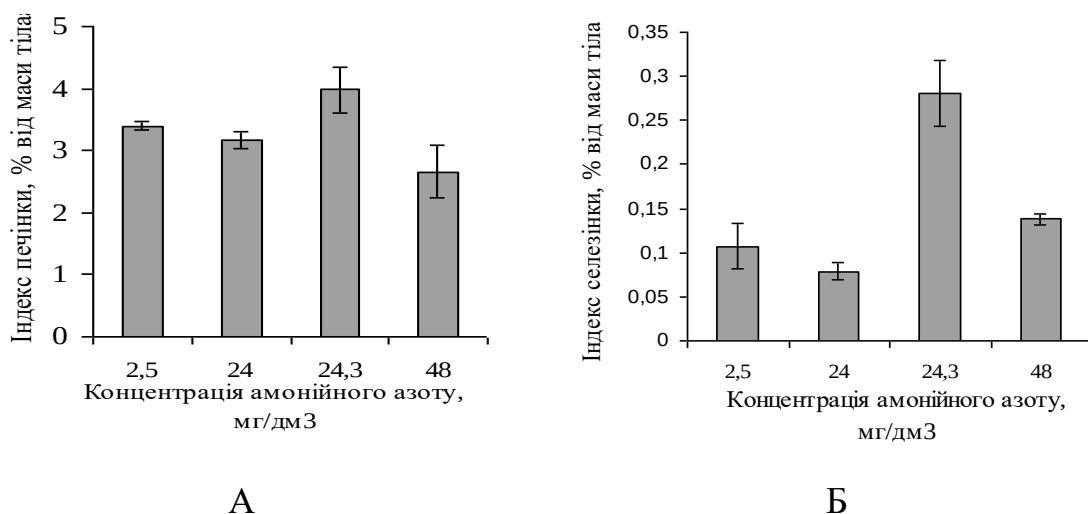
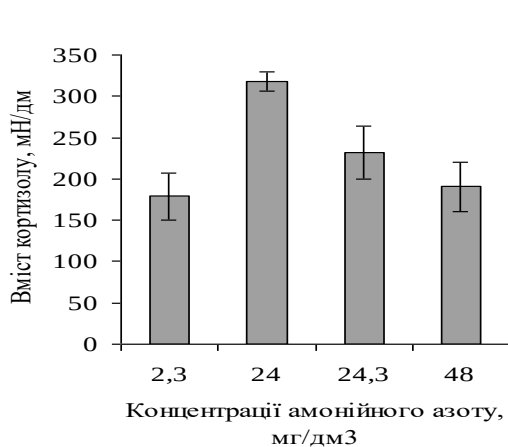


Рис. 4.3. Індекс печінки (А) та селезінки (Б) карася під впливом підвищених концентрацій сполук азоту, $M \pm m$, $n=25-30$.

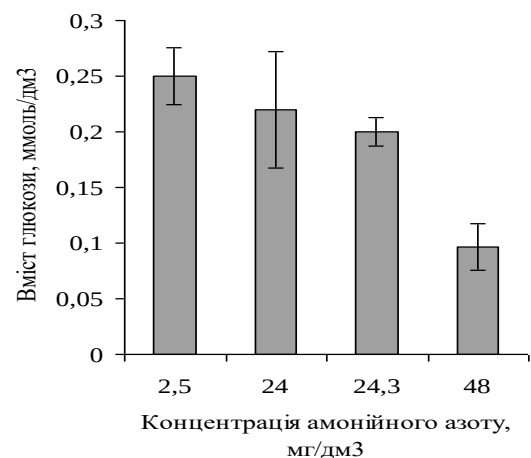
Зміни у функціональному стані зазначених органів можуть спричинити зміни на більш глибокому рівні, які можливо відобразяться на різних метаболічних процесах [41], зокрема на гормональному рівні та процесах енергозабезпечення.

4.1. Вплив амонійного азоту на вміст гормонів та глюкози у плазмі крові карася.

Встановлено, що вміст кортизолу в усіх дослідних груп риб був вищим на 41,8; 22,8 та 6,2 %, відносно контролю (Рис. 4.1.1). Це впливає на процеси росту, обміну речовин, змінює індекси внутрішніх органів. Крім того підвищення вмісту кортизолу може змінювати вміст тиреоїдних гормонів в крові риб [191]. Вміст глюкози у плазмі крові карася із 2-ї, 3-ї та 4-ї дослідних груп був меншим відносно контролю у 1,13; 1,25 та 2,57 рази відповідно щодо контролю. Це вказує на те, що за найбільшої концентрації амонійного азоту (48,0 мг N/дм³) та при існуванні риб у забрудненій водоймі протягом декількох поколінь карась активно використовує глюкозу як легкодоступний енергетичний субстрат для забезпечення енергетичного та пластичного обміну [114]. У всіх піддослідних групах карася вміст тироксину був у 2,1; 2,2 та 2,0 ($p < 0,05$) рази нижче, ніж у контролі (Рис. 4.1.2).



А



В

Рис. 4.1.1. Вміст кортизолу (А) та глюкози (Б) у плазмі крові карася за впливу підвищених концентрацій сполук азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Проте, лише у 4-й групі риб спостерігається зростання вмісту активної форми тиреоїдних гормонів (трийодтиронін). Це корегує метаболічні процеси шляхом посилення окисно-відновних реакцій, які спрямовані на збільшення споживання тканинами кисню за впливу високих концентрацій сполук азоту.

Крім того посилюється активність загального обміну в організмі риби, які протягом тривалого часу (20 років) існували за несприятливих умов навколишнього середовища.

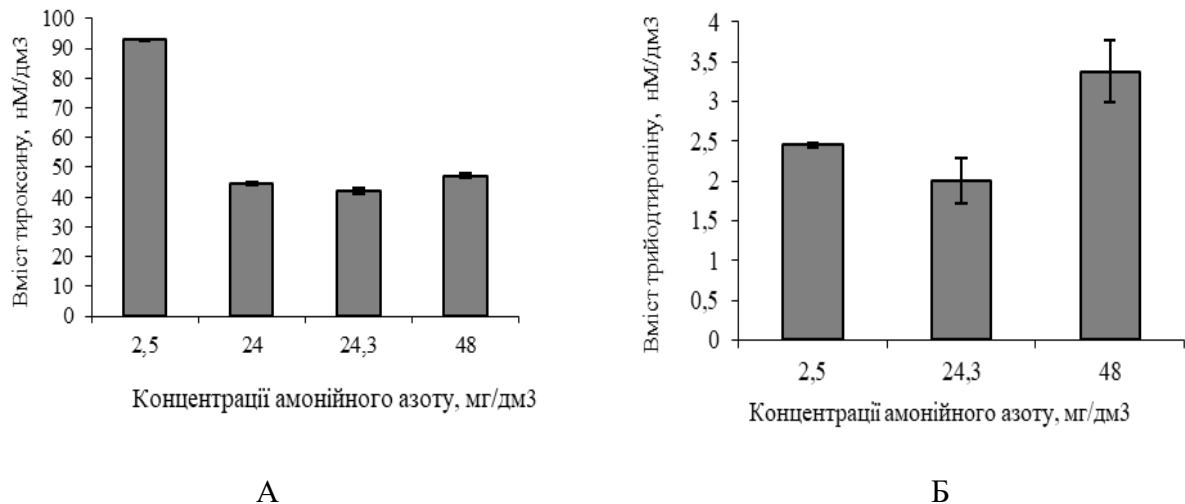


Рис. 4.1.2. Вміст тироксину (А) та трийодтироніну (Б) у плазмі крові карася за підвищених концентрацій сполук азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Оскільки кортизол та тиреоїдині гормони здатні впливати на перерозподіл енергоємних сполук, то у наступному підрозділі буде розглянутий їх вміст за дії амонійного азоту.

4.2. Вміст білка, ліпідів та глікогену в органах та тканинах карася за впливу амонійного азоту.

Вміст білка у м'язовій тканині карася не залежав від концентрації амонійного азоту та тривалості перебування риби в цих умовах. Лише при трирічному перебуванні риби у забрудненій водоймі у м'язах риби знижувався вміст білка на 17,15 % ($p < 0,1$) порівняно до контролю. Відомо, що при нормальному фізіологічному стані у риби вміст білка у м'язах істотно не змінюється [23].

У тканинах печінки карася із 2-ї, 3-ї та 4-ї дослідних груп було встановлено вищий вміст білка на 23,5; 6,0 та 22,6 % відповідно, відносно контролю (Рис. 4.2.1). Це вочевидь пов'язано з процесами детоксикації надмірної кількості йонів амонію та аміаку в організмі риб.

При відносно нетривалому впливі концентрацій амонійного азоту в середовищі протягом 3-х місяців та 3-х років високих у зябрових пелюстках було встановлено вищий на 31 та 17 % вміст білка щодо контролю. В цьому випадку, вірогідно, зростання вмісту білка пов'язано з процесами посиленої екстракції надмірної кількості амонійного азоту в зовнішнє середовище.

Проте, у риб, які адаптувалися до несприятливих умов існування протягом декількох поколінь, величина вмісту білка у зябрах наближається до контролю. Це свідчить про достатній рівень адаптованості риб до підвищених концентрацій сполук азоту.

Вміст і склад ліпідів в органах та тканинах риб залежать від фізіологічного стану організму на який можуть впливати різні фактори водного середовища [2, 118]. Крім того, ліпіди є основою всіх внутрішньоклітинних мембран, а також відіграють істотну роль у метаболізмі клітин [56, 117].

Встановлено, що вміст ліпідів у тканинах м'язів карася із 4-ї групи (20 років) був на рівні контрольних значень, на відміну від риб із 3-ї та 2-ї груп (3 роки та 3 місяці), у яких вміст ліпідів був більшим на 29 та 47 %, відповідно, відносно контролю.

У риб із 2-ї групи у тканинах печінки вміст ліпідів також був більшим на 6% порівняно до контролю (Рис. 4.2.1), на відміну від карася із 3-ї та 4-ї груп, у яких вміст ліпідів у тканинах печінки був меншим на 35 та 9 %, відповідно, щодо контролю. Це могло бути зумовлено використанням енергоємних сполук для забезпечення сталості фізіологічних процесів організму при незадовільних умовах існування.

Зменшення вмісту ліпідів може викликати у риб порушення проникності клітинних мембран, деструктивні та функціональні зміни в органах та тканинах, що може призвести до виснаження організму або зниження його резистентності [17, 117].

Разом з тим слід враховувати, що рівень та спрямованість ліпідного обміну змінюються залежно від етапу онтогенезу, статі, фази репродуктивного циклу [48] та рівня перекисного окиснення ліпідів [105]

Встановлено, що в органах та тканинах всіх дослідних групах риб вміст глікогену був більшим у м'язах на 11; 27 та 22 % ($p < 0,1$), у печінці на 12, 32 і 23 % ($p < 0,1$) та у зябрах на 35; 35 та 44 % ($p < 0,1$) відповідно, щодо контролю.

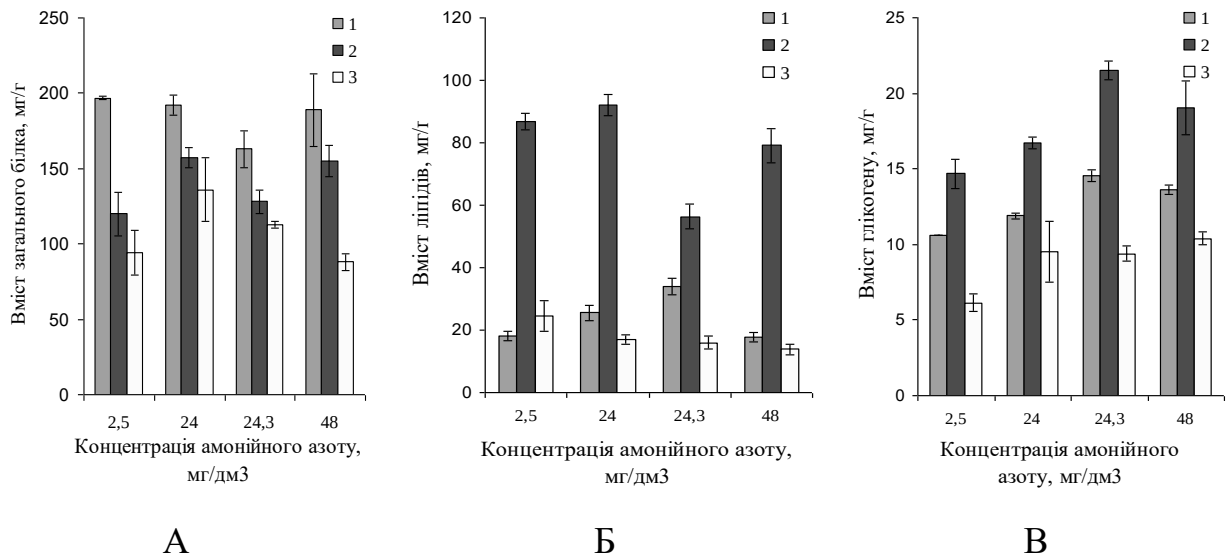


Рис. 4.2.1. Вміст загального білка (А), ліпідів (Б) та глікогену (В) у тканинах карася за дії амонійного азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Примітка: 1 – м'язи; 2 – печінка; 3 – зябра.

Більший вміст глікогену відносно контролю може пояснюватись меншим вмістом глюкози у крові, яка у печінці може перетворитись на глікоген – основний запасний вуглевод, та посиленням процесів глюконеогенезу.

Глікоген риби використовують при швидкому погіршенні умов існування. Крім того, вищий його вміст в печінці може бути зумовлений зниженням вмісту ліпідів, що пов'язано із залученням продуктів ліпідного розпаду на синтез вуглеводів у дослідних риб за впливу високих концентрацій сполук азоту (Рис. 4.2.1 (Б)). Також така стратегія зумовлена нижчим синтезом тиреоїдних гормонів у плазмі крові дослідних риб (Рис. 4.1.2).

4.3. Активність основних ферментів енергетичного, йонного та фосфорного обмінів в тканинах карася за впливу сполук неорганічного азоту.

Нами встановлено, що активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) у тканинах м'язів піддослідних риб була меншою на 41, 30 та 28 % відповідно групам № 2, 3 та 4 відносно контролю.

У карася із 4-ї групи в клітинах зябер активність ферменту була вища на 36 % порівняно до контролю, а у тканинах печінки активність ферменту була вище у 7 разів щодо контролю (Рис. 4.3.1).

Таким чином, високі концентрації сполук неорганічного азоту сповільнюють анаеробні процеси у м'язовій тканині. Проте, у карася із 4-ї дослідної групи було встановлено зростання активності ЛДГ у тканинах печінки, що ймовірно зумовлено посиленням функції детоксикації у цьому органі, що призводить до гліколітичних процесів. Підвищення активності ферменту в зябрових тканинах у риб із зазначеної групи може відбуватись через те, що крізь зябровий апарат здійснюється виведення амонію та аміаку, а цей процес потребує високих енергетичних затрат.

Разом з тим, було встановлено, що у карася із усіх піддослідних груп, активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) у тканині м'язів вища на 55, 38 та 28 %, відповідно, щодо контролю. Також активність цього ферменту в тканинах печінки та зябрових пелюстках карася із 2-ї та 4-ї груп була вищою у 2,2 та 1,7 разів відповідно, відносно контролю. Вища активність СДГ може свідчити на посилення аеробних окисно-відновних процесів у тканинах м'язів та зябер, що пов'язано зі зростанням енергетичних затрат на підтримання нормального функціонування організму [242]. Це ймовірно може розцінюватись як результат протидії організму неспецифічним умовам навколишнього середовища.

На противагу цьому, в тканинах печінки карася із 2-ї та 4-ї груп активність СДГ була меншою у 1,6 та 2,7 разів, відносно контролю. У риб із 4-ї групи активність зазначеного ферменту в тканинах печінки була менше у 2,7 разів, щодо контролю, що може свідчити про те, що за короткого та довготривалого перебування у риби опірні до діючого чинника.

У тканинах зябер карася із 2-ї та 3-ї груп активність СДГ була менше на 23 та 11 %, відповідно, відносно контролю (Рис. 4.3.1). Це може вказувати на більше залучення у процеси енергозабезпечення гліколізу, який доповнює за нагальної необхідності та за екстремальних умов аеробні обмінні процеси.

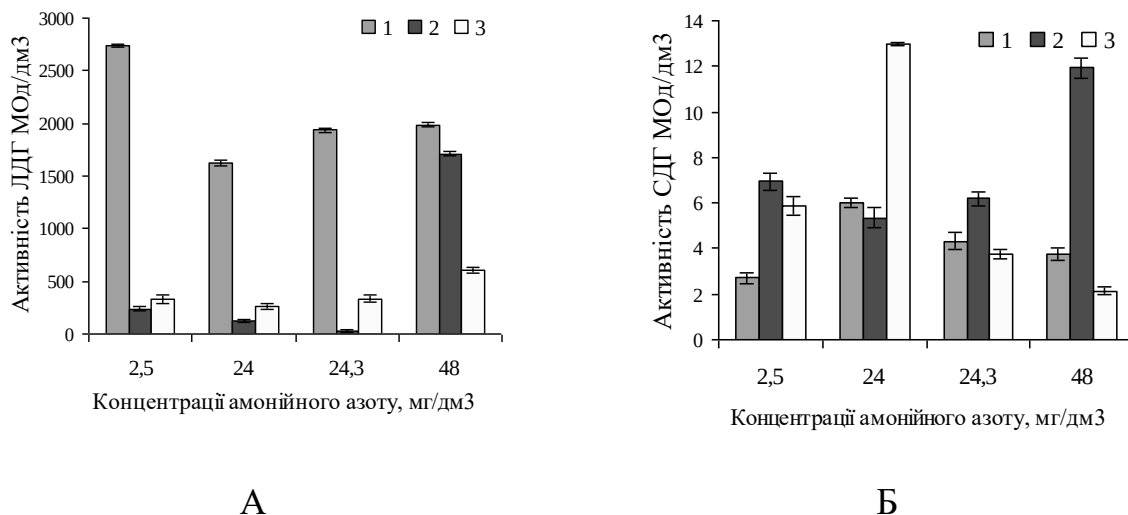


Рис. 4.3.1. Активність ЛДГ (А) та СДГ (Б) у м'язах (1), печінці (2) та зябрах (3) карася за впливу сполук неорганічного азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Крім того досліджена активність Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатази (АТФ-ази) у тканинах риб за дії підвищених концентрацій амонійного азоту. Відомо, що цей фермент приймає активну участь у процесах осмотичної та йонної регуляції клітин. Також цей фермент може забезпечувати перенесення різних метаболітів, у тому числі цукри та амінокислоти, через клітинну мембрану [113].

У тканинах зябер у карася із 2-ї групи активність ферменту зросла на 28 % порівняно до контролю. У риб, які перебували у водоймі із високим вмістом азотних сполук протягом 3-х місяців, відбувалась перебудова у йонному обміні між клітинами зябрових пелюстків та зовнішнім середовищем.

У тканинах білих м'язів риб із 4-ї групи активність АТФ-ази була вищою на 40%, ніж у контролі. Це може свідчити про особливості йонного обміну в риб, що тривалий час перебувають під впливом надмірних концентрацій азотних сполук (20 років). Це необхідно для підтримки їх нормального функціонування [245, 93]. Проте, змін активності АТФази у зябрах цих риб не

спостерігалось, що свідчить про достатній рівень адаптації риб до умов середовища.

У карася із 3-ї групи в зябрових пелюстках спостерігалась нижча на 15 % активність АТФ-ази відносно контролю (Рис. 4.3.2). Це може свідчити на користь того, що у них послаблюються процеси йонного обміну, як результат тривалого негативного впливу сполук неорганічного азоту. Саме зябровий апарат у найбільшій мірі підлягає негативній дії зовнішніх чинників. Крім того, слід зауважити, що у процесі переходу однієї форми азотних сполук в іншу, можливі незворотні зміни в тканинах, у наслідок чого може виникнути клітинна гіпоксія [272].

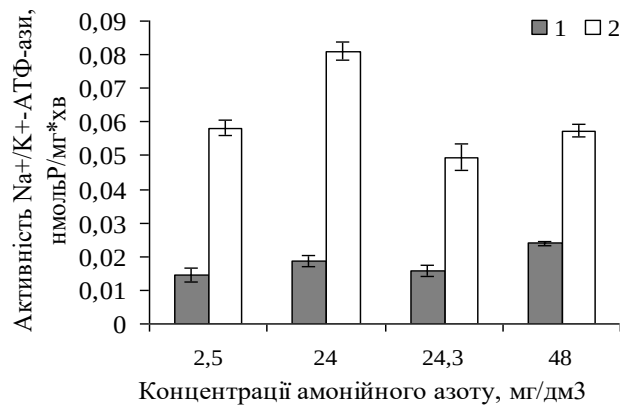


Рис. 4.3.2. Активність Na^+/K^+ - АТФ-ази у м'язах (1) та зябрах (2) карася під дією амонійного азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Активність лужної фосфатази (ЛФ) може відрізнятись у організмах різних видів тварин, які існують у різноманітних екологічних умовах, тому її активність часто розглядають, як показник загального фізіологічного стану тканин різних органів, передусім – печінки [257].

Встановлено, що у карася із усіх піддослідних груп активність ЛФ у тканинах м'язів була вище у 4,2; 7,2 та 12,1 разів відповідно 2, 3 та 4 групи відносно контролю. Разом з тим, у тканинах печінки та зябер карася із 2-ї та 3-ї груп активність ЛФ ферменту була на 77,47 та 73,20 % і на 17,5; 5,6 % нижче. Проте, у карася із 4-ї дослідної групи, активність цього ферменту тканинах печінки (у 2,4 рази ($p < 0,01$)) та зябер (на 26 %) була вище, відносно контролю

(Рис. 4.3.3.). Це свідчить, що реакції риб на діючий чинник залежать від тривалості впливу амонійного азоту на них.

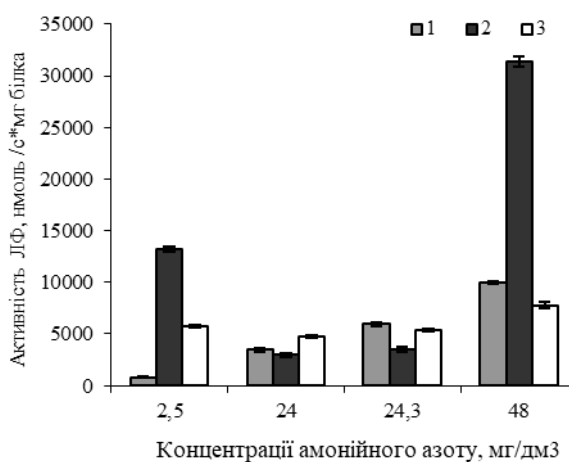
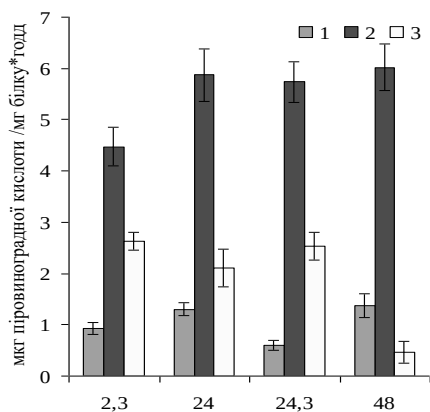


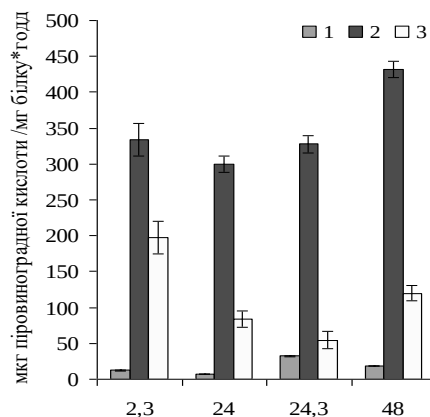
Рис. 4.3.3. Активність лужної фосфатази у м'язах (1) печінки (2) та зябрах (3) карася за дії амонійного азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Встановлено, відмінності у активності амінотрансфераз у риб з різних дослідних груп. Так, у карася із 4-ї групи в тканинах зябрових пелюсток активність АсАТ була нижче у 5,6 рази, а у тканинах печінки та м'язів більше на 25 та 33 % відповідно, відносно контролю. У м'язовій тканині карася із 2-ї та 3-ї груп активність АсАТ була більшою на 33 та 35 % відносно контролю. У свою чергу, активність АлАТ у тканинах зябер карася із усіх дослідних водойм нижча у 2,3; 3,6 та 1,6 разів відповідно, щодо контролю. У тканинах печінки риб із 4-ї групи було встановлено вищу активність АлАТ на 23 % відносно контролю (Рис. 4.3.4.).

Зниження обох амінотрансфераз відбувається при багатьох гострих ураженнях тканин печінки, які можуть зазнавати некрозу, в наслідок чого перестають виділяти ферменти [312]. Припущення щодо ураження печінки карася також знаходить своє підтвердження в рівні активності ЛДГ (Рис. 4.3.1. (А)), адже відомо, що зростання активності зазначеного ферменту може відбуватись при різних порушеннях функціонування печінки, зокрема токсичного її отруєння.



А



Б

Рис. 4.3.4. Активність АсАТ (А) та АлАТ (Б) у м'язах (1), печінці (2) та зябрах (3) карася за дії амонійного азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Вища активність АсАТ у тканинах м'язів може вказувати на інтенсивні навантаження амонію на них. Зниження активності двох цих ферментів у тканинах зябер карася із 4-ї групи, може свідчити про вплив неорганічного азоту на клітини зябрового епітелію.

Глутаматдегідрогеназа (ГДГ) мітохондріальний фермент, що каталізує перетворення глутамінової кислоти в α -кетоглутарову та аміак. Цей фермент також бере участь в обміні амінокислот. Найбільша його активність також у клітинах печінки. ГДГ перебуває всередині мітохондрій гепатоцитів, а тому збільшення її активності спостерігається в основному при важких ураженнях печінки [118].

Встановлено, що у тканинах зябрових пелюсток карася із 2-ї дослідної групи активність ГДГ була менше на 25 %, відносно контролю. Разом з тим, у тканинах печінки цієї ж групи риб її активність також була меншою, проте у 1,6 рази, щодо контролю.

У карася із 3-ї групи в тканинах зябер та печінки активність ГДГ була на 35 та 38% менше відносно контролю.

Втім, у карася із 4-ї групи було встановлено вищу активність цього ферменту в зябровій тканині у 2,2 рази ($p < 0,05$), при цьому в тканинах печінки активність ферменту знижується у 4,5 рази відносно контролю (Рис. 4.3.5.).

Беручи до уваги те, що через зябра відбувається транспорт екзогенного та ендогенного аміаку [118] – це може свідчити про посилення процесів виведення амонію через зябровий апарат у водне середовище.

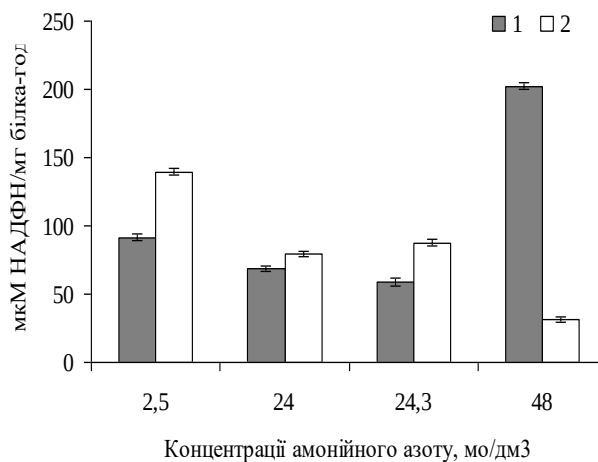


Рис. 4.3.5. Активність ГДГ у зябрах (1) та печінці (2) карася за впливу амонійного азоту, $M \pm m$, $n=5-7$.

Висновки до розділу 4

Таким чином, було встановлено, що на початкових етапах пристосування (протягом 3-х місяців) до надмірного вмісту сполук неорганічного азоту (24,0 мг N/дм³ амонію) у карася підвищується абсолютна плодючість та знижуються індекси печінки та селезінки, порівняно до контролю. У риб із цієї групи вміст кортизолу в крові був значно підвищений, що вказує на наявність стресового стану в риб. Вміст тироксину в крові цієї групи риб був нижчим, що ймовірно призвело до заощадження ліпідів та глікогену в процесах адаптації. Також, у карася із зазначеної групи активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази у зябрах була більшою, ніж у контролі, що вказує на підвищений обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищами. Вірогідно, це відбувається через посилення процесів виведення надлишкового амонію та аміаку в зовнішнє середовище. Ці процеси вимагають посилення енергетичного обміну, в тому числі й шляхом аеробного окиснення. Використання гліколізу на енергетичні потреби в карася з найменшим часом перебування у забрудненому сполуками азоту середовищі дещо знижено. Активність ферментів азотного обміну, відносно контролю, не

мала суттєвих відмінностей. Таким чином, риби які перебували 3 місяці у забрудненій амонійним азотом водоймі знаходились у стані стресу.

При більш тривалому перебуванні карася сріблястого (впродовж 3-х років) у водоймі із вмістом йонів амонію $24,3 \text{ мг N/дм}^3$ спостерігалась, як і в попередньої дослідної групи, підвищена абсолютна плодючість, менші: індекс селезінки і вміст глюкози, тиреоїдних гормонів та активність ЛДГ у тканинах. Разом з тим, у риб як і раніше зберігся високий вміст кортизолу, глікогену і висока активність ферментів аеробного та фосфорного обмінів. Це вказує на те, що риби перебували у напруженому стані через незадовільні умови оточуючого середовища. Також за 3-ри роки активність амінотрансфераз у тканинах печінки карася не зазнала суттєвих змін, порівняно із рибами із 2-ї дослідної групи. Проте, під час 3-х річного пристосування риби активно використовують ліпіди, при цьому заощаджуючи глікоген, можливо це призвело до збільшення індексу печінки у карася із зазначеної дослідної групи. Вміст білку в м'язовій тканині був меншим, ніж у контрольній групі риб, що позначилось на менших лінійно-масових показниках піддослідних риб. Активність АТФ-ази у тканинах зябер була нижчою, ніж у контролі. За 3 роки перебування риб у водоймі з погіршеними екологічними умовами існування карась, як і при 3 місячному пристосуванні, перебуває у напруженому стані. Проте має низку фізіолого-біохімічних відмінностей, корегування яких дозволяє карасю витримати високі концентрації сполук амонійного азоту.

При перебуванні карася впродовж 20-ти років за концентрації амонійного азоту 48 мг N/дм^3 , також як і у карася з попередніх дослідних груп, спостерігались висока абсолютна плодючість та менший вміст глюкози. Проте, можна відзначити, що зазначені показники більш істотно варіювали, ніж у риб із меншим часом перебування та при менших концентраціях. Крім того, зберігаються й інші тенденції у пристосувальних реакціях, які виробились на проміжному етапі адаптації. Передусім, риби продовжували використовувати у першу чергу ліпіди, заощаджуючи глікоген, вміст білку в тканинах м'язів карася також був меншим, ніж у контрольних риб. У наслідок таких процесів у

риб відбулось зниження лінійно-масового росту. Активність ГДГ у тканинах зябрових пелюсток карася також була вищою, ніж у контролі.

Ця піддослідна популяція карася, яка здатна стабільно існувати за високих концентрацій сполук азоту, за окремими фізіолого-біохімічними показниками наближувалась до риб із 2-ї (дослідної) та 1-ї (контрольної) груп. Це, зокрема засвідчує менший індекс печінки (як і у 2-й групі) та наближення рівня кортизолу і активності АТФ-ази у зябрових клітинах до контрольної групи.

Разом з тим, ця група риб характеризувалась вищим вмістом ТЗ при нижчому вмісті Т4 у плазмі крові дослідних риб, що вказує на посилення загальних обмінних процесів. Крім того, активність амінотрансфераз та ферментів аеробного обміну (СДГ), насамперед у тканинах печінки також були вищими, ніж у контролі. У тканинах зябер встановлено високу активність ЛДГ та ГДГ, що вказує на певне посилення ролі гліколізу та азотного обміну за надмірного впливу сполук азоту на цю тканину. На відміну від попередніх дослідних груп, у карася спостерігалась висока активність АТФ-ази у тканинах м'язів. Попри це, тривалий період існування зазначеного угруповання карася в умовах забруднення сполуками азоту, риби все ж зазнають певного негативного впливу. Це відображається на фізіолого-біохімічних особливостях цих риб, які спрямовані на заощадження енергетичних ресурсів, забезпеченні нормального функціонування клітин печінки та зябер (як органів, що найбільше страждають від токсичного впливу) і збільшенні абсолютної плодючості. Проте, за окремими фізіолого-біохімічними показниками карась із 4-ї групи наближується до контрольних риб.

Дослідження цього розділу показали, що різні групи карася сріблястого, які існують у різний проміжок часу та при підвищених концентраціях сполук азоту, істотно відрізняються від особин із сприятливих умов. Це ще раз підтверджує той факт, що карась сріблястий володіє високими пристосувальними можливостями відносно різних екологічних умов існування, що дає підґрунтя для проведення більш глибоких досліджень у пристосувальних реакціях коропових видів риб до негативних умов оточуючого

середовища. Так у більшості водойм міста на риб часто впливає одразу низка негативних чинників (абіотичного та біотичного походження). У цьому випадку експерименти не можуть повноцінно розкрити механізми пристосувальних реакцій риб до багатфакторного впливу різних токсичних речовин. За наявності у водоймах токсичних речовин різної хімічної природи, організм риби може уражатися прямо, через пошкодження органів та тканин та/або опосередковано, накопичуватись в організмах гідробіонтів та передаватись трофічним ланцюгом. Саме через це було проведено наступне дослідження фізіолого-біохімічного стану риби з природних водойм, які розташовані у зоні значного та помірного антропогенного навантаження і відрізняються між собою за рівнем комплексного забруднення токсичними речовинами різного хімічного походження. У дослідженні були використані види карпових риби, які відрізняються між собою за спектром живлення та екологічними нішами, які вони займають у дослідних водоймах. Такими видами було обрано карася сріблястого, краснопірку звичайну та плітку звичайну – як типових представників міських озер і їх адаптивно-пристосувальні реакції до змінених умов середовища робить ці об'єкти особливо цікавими.

Основні положення розділу викладено у наступних публікаціях: [62, 68, 250].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ НА ФІЗІОЛОГО- БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РИБ

З огляду на те, що комплексне забруднення водойм має істотний вплив на фізіологічний стан риб, існує певна необхідність у його дослідженні за різними критеріями: морфо-фізіологічними характеристиками (масою та індексами внутрішніх органів, коефіцієнтами вгодованості, абсолютною плодючістю та розмірно-масовими показниками), вміст енергоємних сполук, рівень гормонів та активність ферментів. Всі перераховані показники спрямовані на отримання об'єктивної інформації у визначенні загального фізіологічного стану риб, встановлення відмінностей у риб за цими показниками залежить від інтенсивності та тривалості антропогенного впливу. Саме на основі змін зазначених показників можна прослідкувати пристосувальні реакції риб до різних екологічних умов існування [58; 129; 135]. Дослідна вибірка риб одного віку з різних екологічних умов характеризувалась суттєвими відмінностями у загальній довжині та загальній масі (Табл. 5.1.).

Таблиця 5.1.

Вік, довжина та маса вибірки карася сріблястого, краснопірки звичайної та плітки звичайної з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове ($M \pm m$, $n=5-7$).

Карась	оз. Бабине	оз. Кирилівське	оз. Лугове
Вік риб	3 ⁺	3 ⁺	3 ⁺
Довжина риб (L), см	23,0 ± 0,2	14,0 ± 1,2	20,0 ± 0,4
Загальна маса риб (M), г	224,7 ± 10,6	97,2 ± 14,9	136,5 ± 11,15
Краснопірка	Бабине	Кирилівське	Лугове
Вік риб	2 ⁺	2 ⁺	2 ⁺
Довжина риб (L), см	13,0 ± 0,7	12,5 ± 1,2	11,2 ± 0,2
Загальна маса риб (M), г	20,1 ± 0,6	16,5 ± 3,2	14,6 ± 0,6
Плітка	Бабине	Кирилівське	-
Вік риб	2 ⁺	2 ⁺	-
Довжина риб (L), см	14,8 ± 0,2	16,2 ± 0,21	-
Загальна маса риб (M), г	29,7 ± 0,6	42,4 ± 0,56	-

5.1. Фізіологічні реакції корошових риб на надмірне антропогенне навантаження та його вплив на зміни абсолютної плодючості, вмісту енергомістких сполук у ікрі карася

Встановлено, що індекси печінки карася із оз. Кирилівське та Лугове не мали вірогідної відмінності у порівнянні із рибами з оз. Бабіне, що свідчить на користь більшої толерантності цього виду до несприятливого впливу. На противагу, індекс селезінки у цих риб був меншим на 44 та 37 % відповідно щодо карася з оз. Бабіне (Рис. 5.1.1.).

Це може вказувати на менше депонування крові у цьому органі у риб із забруднених водойм і вказувати на необхідність у більшому постачанні кисню та поживних речовин в органи та тканини риб в умовах хронічного забруднення, що призводило до зростання функціональної активності селезінки [72].

У краснопірки із оз. Кирилівське індекс печінки та селезінки були на 34 % та 13 % більшими у порівнянні з рибами з оз. Бабіне. На противагу цьому, у риб із оз. Лугове індекс селезінки був у 2 рази меншим, а індекс печінки на 17 % більшим, порівняно з умовним контролем (Рис. 5.1.1.).

У плітки із оз. Кирилівське також було встановлено більші індекси печінки та селезінки на 16,5 та 16,0 % ($p < 0,1$) відповідно порівняно із рибами з оз. Бабіне.

Збільшення розмірів печінки може бути обумовлене посиленням функціональної активності цього органу, за рахунок інтенсифікації обмінних процесів (можливо пов'язаних із детоксикацією) та обводненням зазначеної тканини за умов хронічного забруднення водного середовища [136].

Відомо, що вгодованість риб безпосередньо залежить від наявності кормових об'єктів та характеру перебігу ліпідного та вуглеводного обміну в риб [112]. Встановлено, менші коефіцієнти вгодованості за Фультоном та Кларк у карася із оз. Кирилівське на 13 та 64 % та оз. Лугове на 9,7 та 18,3 % ($p < 0,1$), у порівнянні з карасем із оз. Бабіне. Краснопірка також мала менші коефіцієнти вгодованості на 23, 21 та 27, 39 % відповідно, ніж у контролі.

Проте, плітка мала більші коефіцієнти вгодованості за Фультоном та Кларк на 12 на 13 %, відносно контролю (Рис. 5.1.2).

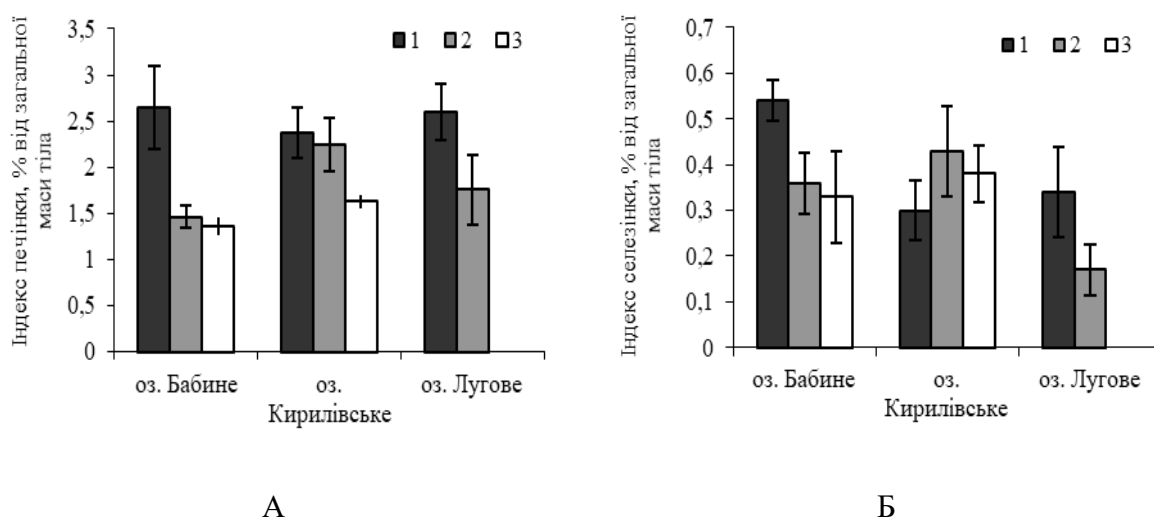


Рис. 5.1.1. Індекси печінки (А) та селезінки (Б) у карася (1); краснопірки (2) та плітки (3) з оз.: Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=5-8$.

Існуванні риб в умовах інтенсивного антропогенного навантаження може істотно знижуватись коефіцієнт вгодованості, що перш за все, пов'язано із опосередкованим впливом токсичних сполук на риб через зменшення чисельності та біологічного різноманіття кормових компонентів у водоймах [72].

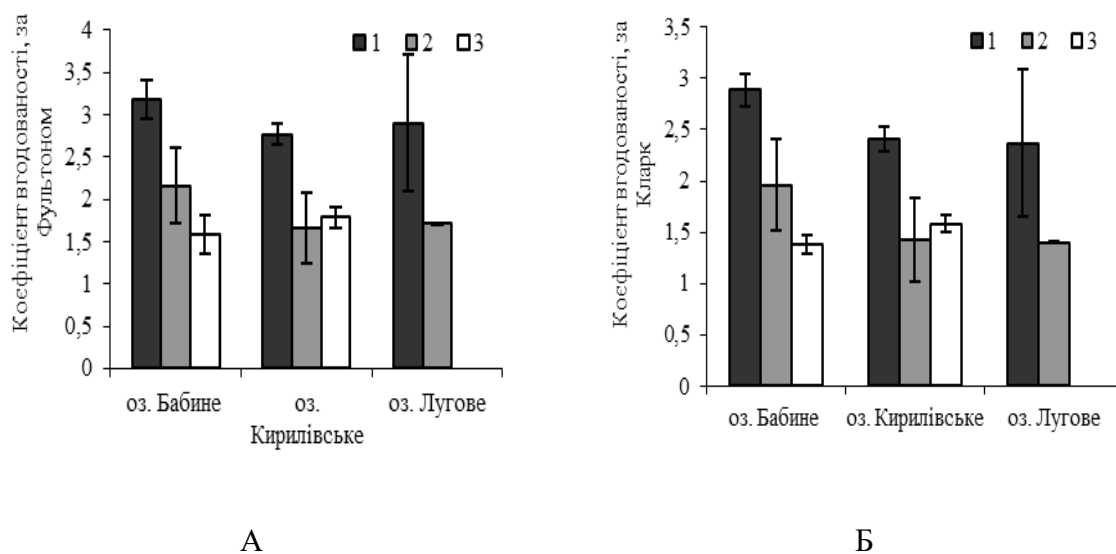


Рис. 5.1.2. Коефіцієнт вгодованості за Фультоном (А) та Кларк (Б) у карася (1); краснопірки (2) та плітки (3) з оз.: Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=5-8$.

Враховуючи той факт, що токсиканти, які потрапляють в оз. Кирилівське впливають на чисельність та склад різних видів організмів, ймовірно, екологічні умови у цій водоймі можуть, у певний період року, сприяти накопиченню поживних речовин пліткою. Крім того, збільшення коефіцієнтів вгодованості у літній період може бути необхідним для заощадження енергозапасаючих сполук на випадок погіршення умов існування у зазначеній водоймі, що може вказувати на коливання екологічних умов для існування плітки.

Екологічні умови та резерви енергоємних речовин напряму впливають на формування статевих клітин риби та в подальшому на життєстійкість їх молоді.

Відомо, що на процеси відтворення риби можуть впливати низка різноманітних чинників, серед яких можна виділити гідрохімічний та гідрологічний режими водойми, наявність кормових об'єктів та загальний фізіологічний стан особин, які знаходяться у фертильному періоді. Ці чинники неодмінно позначаються на чисельності закладених ікринок та їх біохімічному складі, що, у свою чергу, відобразиться на якості нащадків та їх здатності до виживання. Тому, плодючість є одним із важливих критеріїв при оцінці фізіологічного стану статевозрілих риби та екологічних умов місця їх існування. Саме фізіологічна здатність карася підтримувати свою чисельність у екологічно напружених умовах викликає особливу цікавість.

Було встановлено, що у карася із оз. Лугове абсолютна плодючість була у 2,35 рази більше, відносно риби з оз. Бабіне (Рис. 5.1.3). Доцільно звернути увагу на те, що у карася із забруднених водойм сполуками азоту, також було виявлено більшу плодючість, відносно риби із умовно чистого озера (Рис. 4.2. (А)). Це вказує на те, що збільшення абсолютної плодючості у карася сріблястого є ефективною та універсальною, пристосувальною стратегією для виживання і підтримки чисельності популяції вказаного виду при незадовільних умовах існування незалежно від хімічної природи забруднення.

Іншим критерієм оцінки репродуктивної здатності риби є показник гонадосоматичного індексу (ГСІ), який визначає частку продукрованої ікри (самиць) від маси тіла [100].

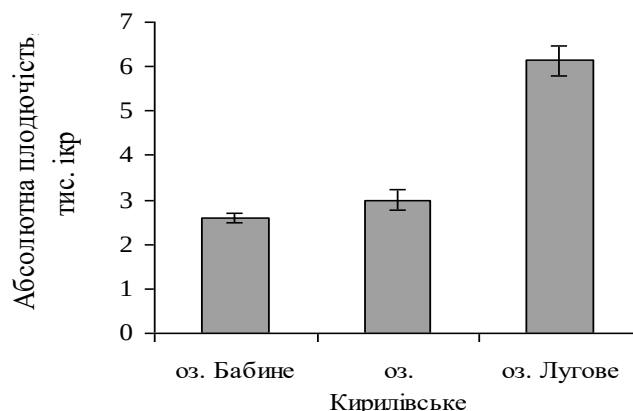


Рис. 5.1.3. Абсолютна плодючість карася з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n = 5-8$.

Відомо, що за антропогенного впливу в різних видів риби зазвичай ГСІ знижується, проте, за результатами наших досліджень у карася із озер Кирилівське та Лугове ГСІ був більшим у самок (у 1,8 та 3,1 разів) та самців (у 2,2 та 1,7 разів), у порівнянні з рибами з оз. Бабине (Рис. 5.1.4). Зміна цього показника може бути зумовлено різними стадіями дозрівання гонад виду за впливу специфічних екологічних умов.

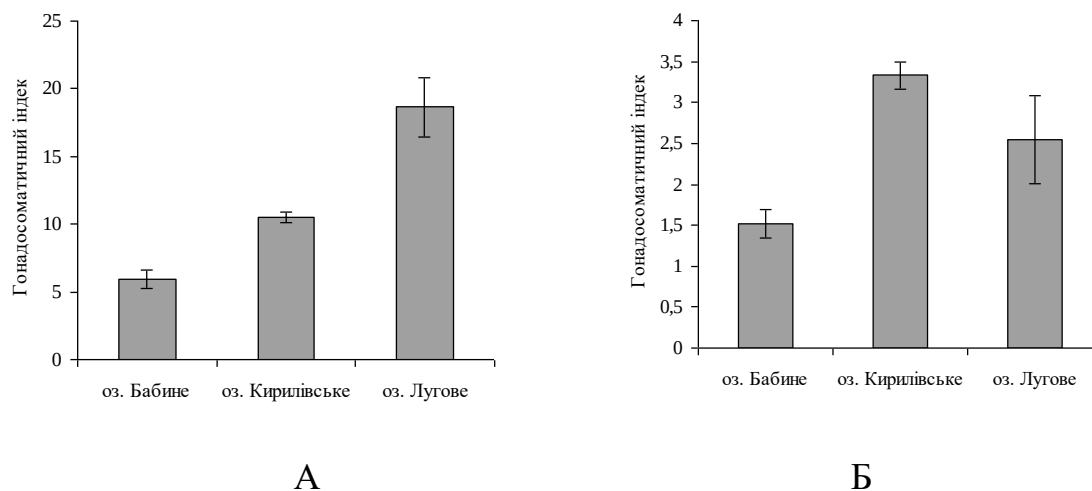


Рис. 5.1.4. Гонадосоматичний індекс самок (А) та самців (Б) карася із озер Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=5$.

Біохімічний склад ооцитів є одним з важливих критеріїв оцінки їх якості. Тому, було встановлено, що у риб із водойм, які знаходяться під антропогенним навантаженням – оз. Кирилівське та Лугове вміст ліпідів у ікрі був меншим на 32 та 21 %, відповідно, ніж у контролі. Вміст глікогену в ооцитах риб з оз. Кирилівське також був на 16,8 % нижчим, відносно контролю (Рис. 5.1.5). Проте, у карася із оз. Лугове досліджуваний показник був на рівні з рибами із умовного контролю. На противагу цьому, вміст білка в ооцитах карася із забруднених озер був у 2,2 та 2,0 рази більше, відповідно, щодо ооцитів риб із оз. Бабіне.

Отримані результати акцентують на наявності несприятливих умов для існування карася, зокрема наявність токсичних речовин у донних відкладах. Менше накопичення ліпідів та глікогену в ооцитах карася із озер, що знаходяться під антропогенним забрудненням, могло бути пов'язаним із більшим використанням енергомістких сполук для підтримки нормального функціонування організму за критичних умов існування.

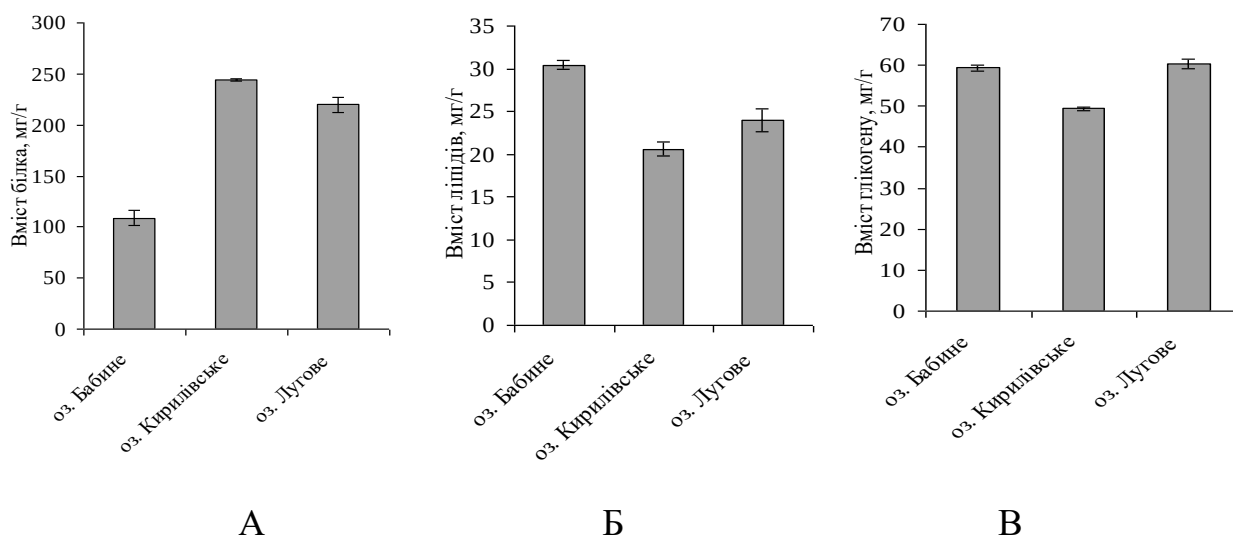


Рис. 5.1.5. Вміст білків (А), ліпідів (Б) та глікогену (В) в ікрі карася із оз. Бабіне, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=5$.

Таким чином, існування карася за різних екологічних умов позначилось на утворенні більшої кількості ооцитів та на зміні їх біохімічного складу, зокрема, на меншому вмісті головних енергетичних субстратів – передусім,

ліпідів та глікогену. Втім, відмінності у пластичному обміні риб призвели до того, що у карася із оз. Кирилівське та Лугове був встановлений більший вміст білка. Зміна цього показника може відображати різні стадії зрілості статевих клітин та можливі коливання абіотичних чинників, зокрема вміст кисню та температури води.

5.2. Вплив антропогенного забруднення на індикаторні показники плазми крові риб.

Вміст глюкози у плазмі крові карася із оз. Кирилівське був більшим на 74,4 %, а у краснопірки на 22,4 % порівняно з умовним контролем. Проте, у плітки вміст глюкози був у 3 рази нижче відносно контролю. Карась з оз. Лугове також характеризувався більшим вмістом глюкози у 2,7 рази, а у краснопірки її вміст не мав вірогідних відмінностей у порівнянні з краснопірки з оз. Бабіне (Рис. 5.2.1). Активне використання глюкози піддослідними рибами дозволяють їм протидіяти токсичному впливу, зокрема за умов хронічного стресу. Крім того, залежно від виду риб та інтенсивності забруднення води, спостерігались зміни у вмісті як глюкози так і кортизолу.

Краснопірка із оз. Кирилівське характеризувалась більшим (на 30,2 %) вмістом кортизолу в плазмі крові, відносно контролю. У плітки на відміну від краснопірки, вміст цього гормону був у 4,7 рази нижчий ($p < 0,01$). Разом з тим, карась, що існував у різних екологічних умовах не мав суттєвих відмінностей за вмістом цього гормону в плазмі крові.

У несприятливих умовах (оз. Лугове) карась мав нижчий (у 1,7 рази) вміст кортизолу в плазмі крові, а краснопірка – більший (у 4,2 рази) порівняно з цими видами риб з оз. Бабіне (умовний контроль). Незадовільні екологічні умови водного середовища, які пов'язані з істотним забрудненням води, можливо викликають видоспецифічну реакцію у досліджуваних видів, що характеризувалися різним вмістом кортизолу. Відомо, що високий вміст цього гормону в крові може впливати на основні індекси внутрішніх органів (селезінки, печінки та гонад) [130].

Зменшення вмісту кортизолу в плазмі крові карася з оз. Лугове у 1,7 рази та плітки з оз. Кирилівське у 4,7 рази відносно контролю може вказувати на перебудову в енергетичному обміні залежно від особливостей умов існування. Крім того, зміна його вмісту може бути наслідком негативного впливу токсичних сполук, що надходять у дослідні водойми з прилеглої території [30, 92].

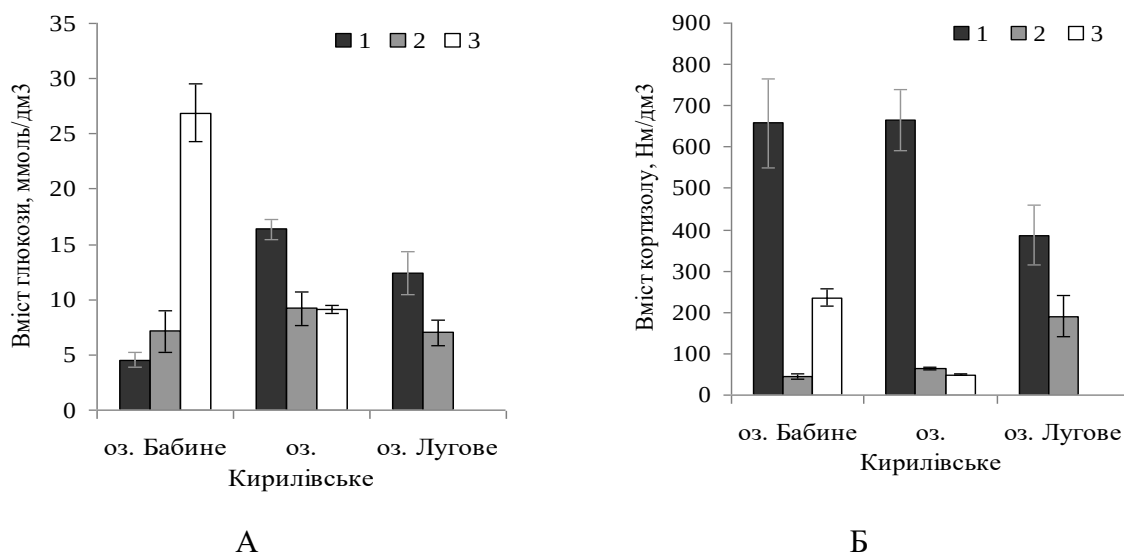


Рис. 5.2.1. Вміст глюкози (А) та кортизолу (Б) у плазмі крові у карася (1), краснопірки (2) та плітки (3). з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n = 5-8$.

Встановлено, що карась з оз. Кирилівське та оз. Лугове характеризувався меншим (у 4,7 та 1,5 рази, відповідно) вмістом Т3 у плазмі крові порівняно з рибами з оз. Бабине. Також, карась з оз. Кирилівське мав більший у 2 рази вміст Т4, що вказує на корегування обмінних процесів за впливу несприятливих екологічних умов існування.

Через те, що Т3 у 10 разів активніший за Т4, природнім є посилення синтезу Т4, як компенсаторної реакції для відновлення Т3. Слід зазначити, що нижчий вміст Т3 у поєднанні зі зниженим вмістом кортизолу в крові карася, ймовірно, вказує на уповільнення проходження обмінних процесів. Коефіцієнт кореляції між вмістом Т3 і кортизолом, та вмістом Т3 і глюкозою у риб з оз. Кирилівське становить $r = 0,74$ та $r = 0,98$ відповідно.

У свою чергу, в плітки з оз. Кирилівське вміст Т3 та Т4 у крові був значно меншим у 2 та 4 рази відносно риб з оз. Бабине (Рис. 5.2.2).

У краснопірки з обох забруднених водойм спостерігався більший у 2,2 рази вміст Т3, а у риб з оз. Кирилівське також був більшим у 2,1 рази і вміст Т4 відносно контролю. Проте, у риб з оз. Лугове вміст цього гормону був менше на 22,4 % порівняно до контролю (оз. Бабине). Зміна вмісту Т3 у краснопірки може бути пов'язано із посиленням процесів споживання кисню тканинами за рахунок інтенсифікації окисно-відновних процесів при існуванні цього виду в забрудненому середовищі, зокрема нафтопродуктами. Це також підтверджує еколого-фізіологічні особливості краснопірки, як активного мешканця товщі води.

Встановлена пряма залежність між вмістом глюкози та тиреоїдними гормонами у краснопірки з оз. Кирилівське ($r = 0,94$, $r = 0,73$). Ця залежність вказує на те, що вищий вміст глюкози у плазмі крові риб з забруднених озер пов'язаний із активною гуморальною регуляцією обмінних процесів за дії токсичних чинників.

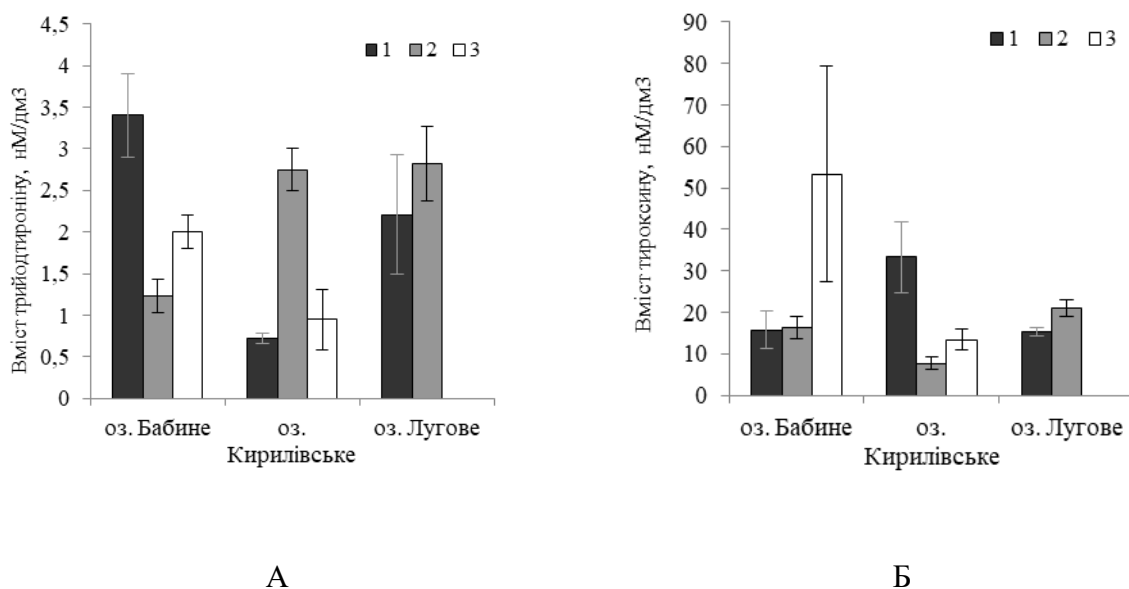


Рис. 5.2.2. Вміст трийодтироніну (А), тироксину (Б) у плазмі крові у 1 – карася; 2 – краснопірки та 3 – плітки з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n = 5-8$.

5.3. Вміст енергомістких сполук та малонового діальдегіду в органах та тканинах корошових видів риб за дії антропогенного навантаження.

Відомо, що при дослідженні фізіологічного стану риб у водних об'єктах, які зазнають впливу антропогенного забруднення доцільно враховувати зміни вмісту енергомістких сполук, зокрема ліпідів та глікогену.

Встановлено, що у тканинах печінки карася із оз. Кирилівське вміст глікогену був меншим у 2,8 рази ($p < 0,05$) порівняно до риб з умовного контролю (оз. Бабине). Проте, у карася із оз. Лугове достовірних відмінностей виявлено не було (Рис. 5.2.3). Менший вміст глікогену в карася із оз. Кирилівське може пояснюватись його конвертацією у глюкозу, вміст якої у цих риб був більшим, порівняно з карасем із чистої водойми. Адже, для подолання негативного впливу токсичних речовин на організм інтенсивно використовується глікоген, як найбільш легкодоступна енергоємна сполука [236]. Завдяки зміні активності глюкозо-6-фосфатази, глікоген здатний швидко перетворюватись у глюкозу задля урівноваження її вмісту в крові риб. Крім того, риби із оз. Бабине мали вищі розмірно-масові показники, ніж карась із дослідних забруднених озер системи «Опечень». Подібні відмінності за вмістом глікогену в карася спостерігали і в каналізованих та трансформованих річках м. Києва [254].

Стійкість карася до гіпоксії, зокрема при коливанні кисневого режиму, пояснюється фізіологічною особливістю цього виду, адже карась збільшує вміст глікогену в тканинах печінки порівняно з іншими видами, що дозволяє йому швидко використовувати та поповнювати запаси цієї речовини залежно від енергетичних потреб [227]. Що пояснює його істотну стійкість до негативних умов навколишнього середовища.

У краснопірки із оз. Кирилівське та Лугове вміст глікогену в тканинах печінки був меншим на 19 та 26 %, ніж у контролі (Рис. 5.2.3.). Проте, вміст глюкози у плазмі крові у риб із забруднених водойм суттєво не змінювався, відносно контролю (Рис. 5.2.1. (А)).

У свою чергу в плітки із оз. Кирилівське також було встановлено менший (на 16,6 %) вміст глікогену, проте вміст глюкози у неї так само був значно нижчим, ніж у контролі. Це може вказувати на те, що риби перебували у пригніченому стані.

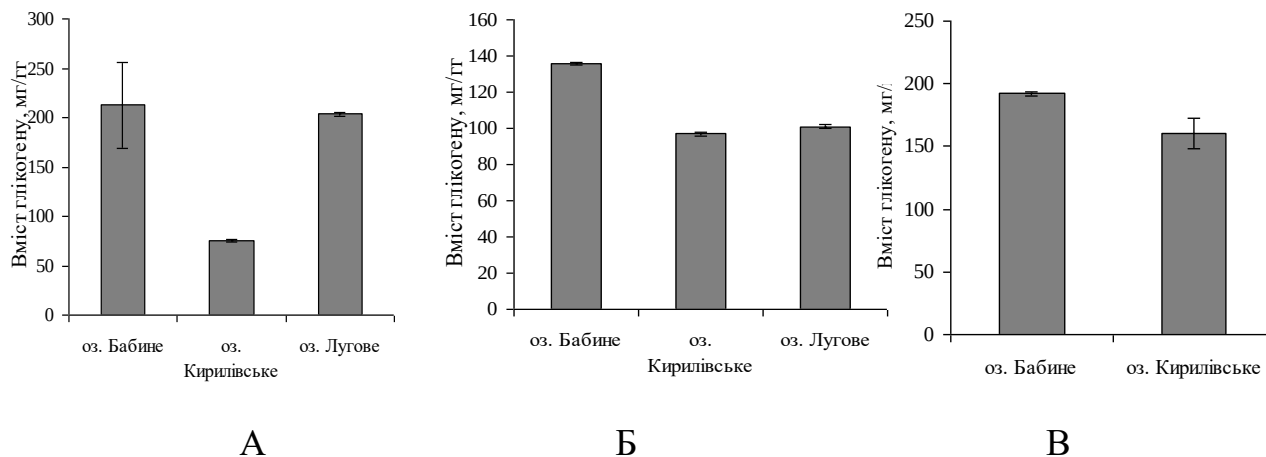


Рис. 5.2.3. Вміст глікогену в печінці карася (А), краснопірки (Б) та плітки (В) із оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

Встановлено, що вміст ліпідів у карася з оз. Кирилівське та Лугове був вірогідно нижчим у 2,16 та 2,05 разів ($p < 0,01$) відповідно, щодо умовного контролю. Це вказує на додаткове їх залучення при адаптації до несприятливих умов існування.

Крім того, менший вміст ліпідів спостерігався у тканинах печінки краснопірки (у 2,3–2,7 разів) та плітки (у 2,17) із забруднених водойм, відносно риб з оз. Бабине (Рис. 5.2.4.).

Активне використання запасних ліпідів із оз. Кирилівське та Лугове може свідчити про наявність у придонних шарах водойм у значних кількостях токсичних речовин, зокрема при високому вмісті нафтопродуктів у донних відкладах [30]. Аналогічні процеси у краснопірки та плітки можуть вказувати на загальне погіршення екологічних умов в озерах Кирилівське та Лугове, адже риби використовують енергомісткі сполуки у процесах знешкодження потенційно токсичних речовин, що зазвичай супроводжуються посиленням процесів катаболізму цих сполук [3, 117].

Також, слід зауважити, що іншими дослідниками було встановлено значне зниження вмісту енергомістких сполук, зокрема глікогену, білка та жирів у печінці у окуня із оз. Кирилівське у весняний та осінній періоди [112].

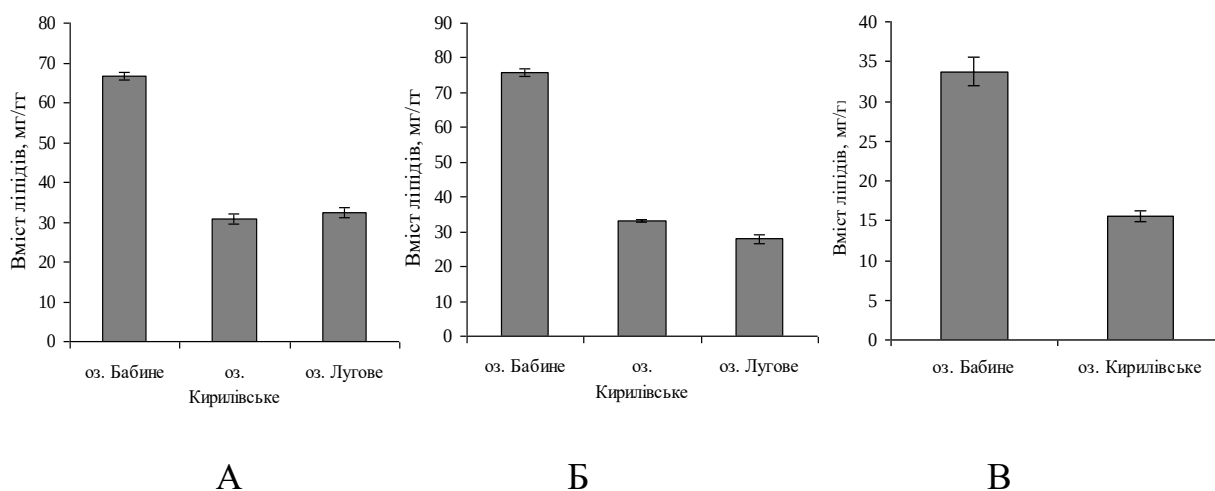


Рис. 5.2.4. Вміст ліпідів у печінці карася (А), краснопірки (Б) та плітки (В) із оз. Бабинь, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

Відомо, що у літній період у більшості риб відбувається процес активного росту, який неможливий без залучення енергоємних речовин. Крім того, риби, які існують в умовах антропогенного навантаження зазнають і токсичного впливу, тому ліпіди використовуються й для протидії токсикозу.

Через надходження до оз. Кирилівське та Лугове великої кількості комунально-побутових стоків відбувається насичення водойми біогенними, органічними та токсичними сполуками [84, 108]. Це викликає порушення кисневого режиму та сприяє виникнення гіпоксичних зон, особливо у придонних шарах води [343].

Можна припустити, що у наслідок поведінкових (тип живлення та спосіб добування корму) та фізіологічних (специфіка метаболізму – накопичення енергоємних сполук) відмінностей між карасем, краснопіркою та пліткою відбуваються різні реакції на наявність токсичних речовин або у придонному або у поверхневому шарах. Тому, далі буде розглянуто один із найбільш вживаних діагностичних показників наявності хронічного стресу на двох коропових видах риб.

Одним з найбільш характерних та кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є малоновий діальдегід (МДА), накопичення якого у тканинах свідчить про інтенсивність ПОЛ та наявність оксидативного стресу в риб. Він характеризує сукупністю процесів пошкодження клітин у результаті її окиснення активними формами кисню та поліненасиченими жирними кислотами у ліпідах мембран клітин [7, 101]. На рівень ПОЛ впливають такі чинники як 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 [112].

За результатами проведених досліджень було встановлено, що у тканинах печінки карася із забруднених озер Кирилівське та Лугове вміст МДА був більшим на 82,8 та 77,4 % відповідно, а у краснопірки із оз. Кирилівське вміст цієї сполуки також був більшим на 31,4 % порівняно з рибами з оз. Бабине (Рис. 5.2.5.).

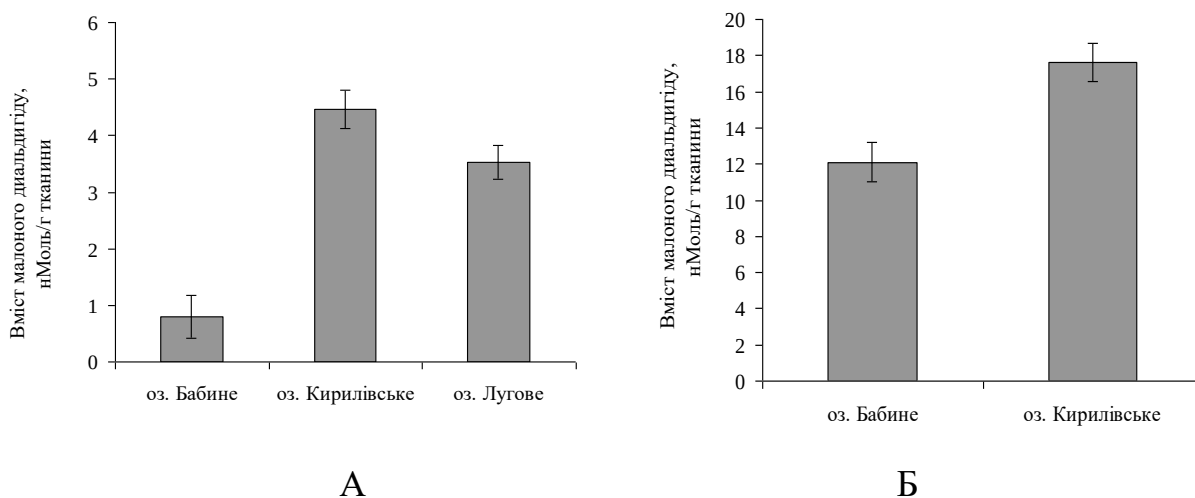


Рис. 5.2.5. Вміст малонового діальдегіду в печінці карася (А) та краснопірки (Б) із оз. Бабине (І), Кирилівське (ІІ) та Лугове (ІІІ), $M \pm m$, $n=6-8$.

Отримані результати можуть вказувати на те, що токсичні речовини, які надходять до водойм створюють напружені умови для існування зазначених представників іхтіофауни. Це, у подальшому, може вплинути на систему антиоксидантного захисту.

Було встановлено більший вміст МДА у риб з дослідних антропогенно-забруднених озер системи «Опечень», який може спричиняти у карася та краснопірки зниження вмісту енергомістких сполук (Рис. 5.2.3. та Рис. 5.2.4.), які інтенсивно використовувались для протидії довготривалим негативним чинникам водного середовища. Крім того, це відобразилось на зниженні коефіцієнтів вгодованості (Рис. 5.1.2) та на показниках лінійно-масового росту досліджених риб (Табл. 5.1.). Проте, відмінності у особливостях пристосування різних видів до наявних умов, також істотно відображаються на більш глибокому рівні, зокрема на активності ферментів енергетичного, азотного та фосфорного обмінів.

5.4. Активність основних ферментів енергетичного та фосфорного обмінів у коропових видів риб за дії антропогенного забруднення.

5.4.1. Зміна активності СДГ та ЛДГ за впливу антропогенного забруднення.

Встановлено, що активність сукцинатдгідрогенази (СДГ) у тканинах м'язів та печінки карася та краснопірки з оз. Кирилівське та Лугове була вищою, відносно контролю. Проте, у плітки із оз. Кирилівське спостерігалась більша активність зазначеного ферменту лише у тканинах печінки (на 25 %), а у м'язовій тканині активність цього ферменту була нижче на 31,2 % відносно контролю.

Так, у карася із оз. Кирилівське та Лугове активність СДГ у тканинах м'язів (63,0 та 40,6 %) та печінки (18,0 та 42,0 %) була вищою, ніж у риб із контрольної водойми. Збільшення активності цього ферменту були встановлені у краснопірки в тканинах м'язів на 13 та 50 % та печінки на 43 та 46 % відповідно щодо контролю (Рис. 5.4.1.1).

У свою чергу, в тканинах зябрових пелюсток карася та краснопірки були встановлені міжвидові відмінності у активності СДГ, зокрема у риб з оз. Лугове. У карася із зазначеного озера активність ферменту в зябрових

пелюстках була на 35,1 % вище, а у плітки, навпаки, – активність зазначеного ферменту була на 48 % меншою, ніж у видів з оз. Бабіне.

У карася, краснопірки та плітки із оз. Кирилівське, активність СДГ була вищою на 8, 20 та 72,8 %, відповідно, ніж в умовному контролі. У карася з оз. Лугове активність цього ферменту була вища на 40,6 %, а у краснопірки на 48 % нижча (Рис. 5.4.1.1).

Це також може свідчити на користь відмінностей метаболізму цих тканин між двома представниками коропових риб, що займають різні екологічні ніші у водоймах.

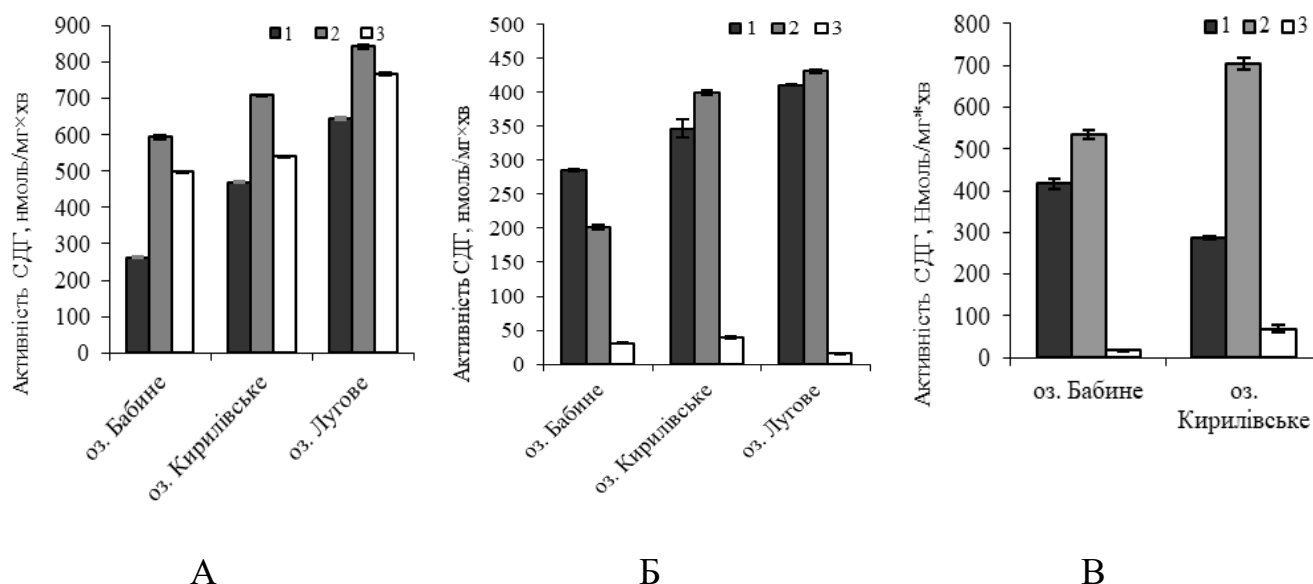


Рис. 5.4.1.1. Активність сукцинатдегідрогенази у м'язах (1), печінці (2) та зябрах (3) у карася (А) краснопірки (Б) та плітки (В) з оз. Бабіне (І), Кирилівське (ІІ) та Лугове (ІІІ), $M \pm m$, $n=6-8$.

Встановлено, що у м'язовій тканині карася з оз. Кирилівське та Лугове спостерігалась менша, ніж в контролі активність ЛДГ на 10 та 5 %, відповідно. У тканинах печінки також встановлено меншу на 20 та 29 % активність цього ферменту, відповідно, ніж у риб з оз. Бабіне (Рис. 6.4.1.2).), що може бути пов'язаним із збільшенням вмісту Т4 (див. Рис. 5.2.2.) у плазмі крові карася принаймні з оз. Кирилівське, оскільки з літературних джерел відомо про здатність тироксину знижувати синтез ЛДГ [328].

Проте, у краснопірки із дослідних водойм (Кирилівське та Лугове) спостерігалась схожа тенденція зниження активності цього ферменту відносно умовного контролю в тканинах м'язів (на 2,5 та 3,5 % ($p > 0,1$) та печінки (на 5,5 та 4,5 % ($p > 0,1$))

Активність ферменту в зябровій тканині краснопірки з оз. Кирилівське була на 30 % нижче, а у риб із оз. Лугове на 15,5 % вища, відносно контролю (Рис. 5.4.1.2). У свою чергу, в зябрових тканинах карася з дослідних водойм, істотних відмінностей в активності ЛДГ виявлено не було, щодо риб з оз. Бабине.

У плітки із оз. Кирилівське спостерігалась менша активність ЛДГ у всіх досліджуваних тканинах. Так, активність цього ферменту в тканинах м'язів, печінки та зябрових пелюсток була на 11,5; 11 та 16 % нижча відповідно щодо риб з оз. Бабине.

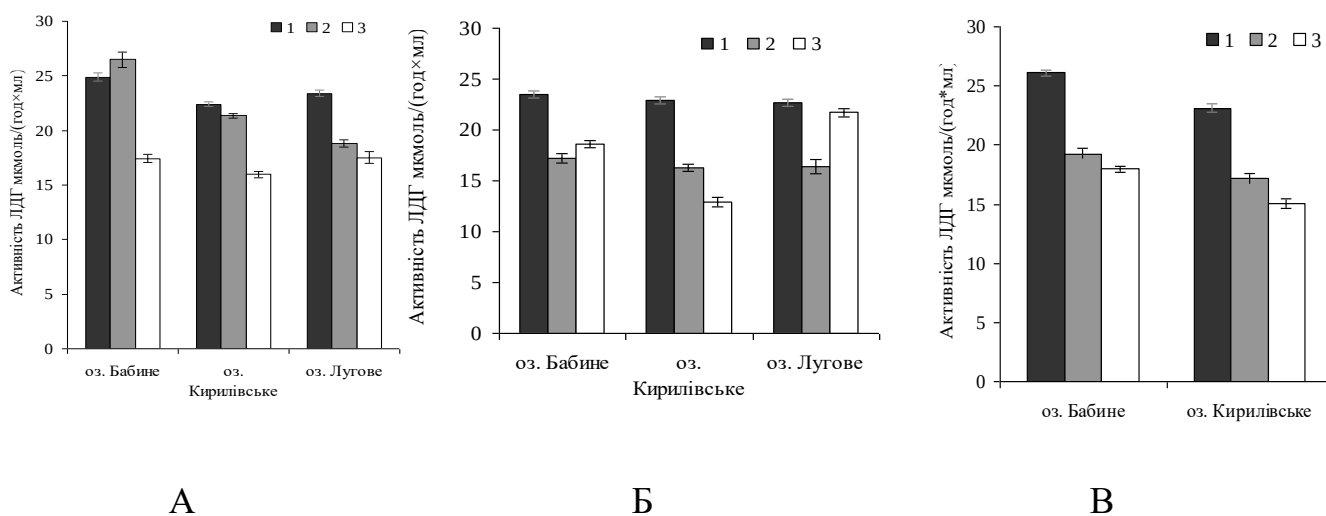


Рис. 5.4.1.2. Активність лактатдегідрогенази у м'язах (1), печінці (2) та зябрах (3) у карася (А), краснопірки (Б) та плітки (В) з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

Тому, за умов різної інтенсивності забруднення водойм токсикантами різної хімічної природи у риб посилюється енергетичний обмін, як результат протидії потенційному агресивному середовищу. На користь цього, свідчить вища активність СДГ у тканинах м'язів та печінки риб із водойм, які зазнають

антропогенного забруднення (оз. Кирилівське та Лугове). Але, у краснопірки з оз. Лугове зафіксовано нижчу активність СДГ у тканинах зябер при істотному підвищенні активності ЛДГ [282]. Тканинна гіпоксія могла виникнути в наслідок розвитку хронічного стресового стану за дії токсичних речовин. Збільшення активності ЛДГ та зниження активності СДГ є своєрідною адаптивною стратегією виду під час переходу від стану аеробіозу в стан анаеробіозу [201].

5.4.2. Вплив антропогенного забруднення на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази коропових видів риб.

Враховуючи суттєві зміни у активності ферментів вуглеводневого обміну, слід звернути увагу на вплив антропогенного забруднення на активність аденозинтрифосфатази (АТФ-ази).

Встановлено, що активність Na^+/K^+ -АТФ-ази у зябровій тканині карася та краснопірки мала подібну закономірність – її активність знижувалася за погіршенням екологічних умов існування риб.

Проте, у плітки активність цього ферменту в зазначеній тканині була більшою. У зябровій тканині карася та краснопірки з оз. Кирилівське активність Na^+/K^+ -АТФ-ази була нижчою на 58,5 % та 79,1 % відповідно, щодо умовного контролю (Рис. 6.4.2.1).

Натомість, у зябровій тканині карася та краснопірки із оз. Лугове та плітки із оз. Кирилівське активність ферменту була вищою, у карася на 68,3 %, краснопірки на 30,6 %, а у плітки на 4,5 % відносно риб з оз. Бабіне.

Таким чином, активність Na^+/K^+ -АТФ-ази у тканині зябер досліджуваних видів риб істотно залежить від специфіки та рівня забруднення водойм, що також обумовлено фізіологічними особливостями кожного окремого виду, екологічної ніші яку він займає та екологічних особливостей озер.

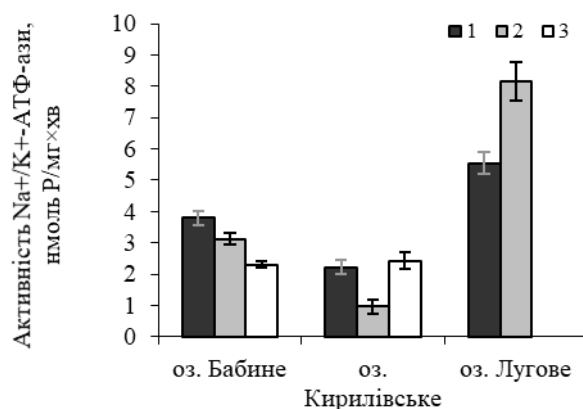


Рис. 5.4.2.1. Активність Na^+/K^+ -АТФ-ази у зябрах карася (1), краснопірки (2) та плітки (3) з оз. Бабіне, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

5.4.3. Вплив антропогенного забруднення на активність лужної фосфатази у коропових видів риб.

Встановлено, що у карася із оз. Кирилівське та Лугове активність ЛФ в тканинах печінки була нижче на 17,0 та 85,3 %, а у краснопірки на 50,0 та 47,3 % відповідно, порівняно з рибами з оз. Бабіне. Це може пояснюватись енергозатратними процесами, які спрямовані на детоксикацію забруднюючих речовин. Крім того, зниження активності ЛФ може бути пов'язане із накопиченням у тканинах риб токсичних речовин, зокрема важких металів, вміст яких вищий за референтні значення.

У зябровій тканині активність ЛФ була вище у карася із оз. Кирилівське та Лугове на 48,0 та 59,0 % та у плітки (із оз. Кирилівське) на 39,9 %, відносно риб оз. Бабіне (Рис. 5.4.3.1). Вища активності цього ферменту в зябрах піддослідних риб свідчить про посилення процесів фосфорилування, які спрямовані на знешкодження та виведення токсиканту з організму шляхом детоксикації. Необхідно зауважити, що у краснопірки з забруднених озер активність ЛФ у зябровій тканині була на 27 та 24 % нижче, щодо контролю.

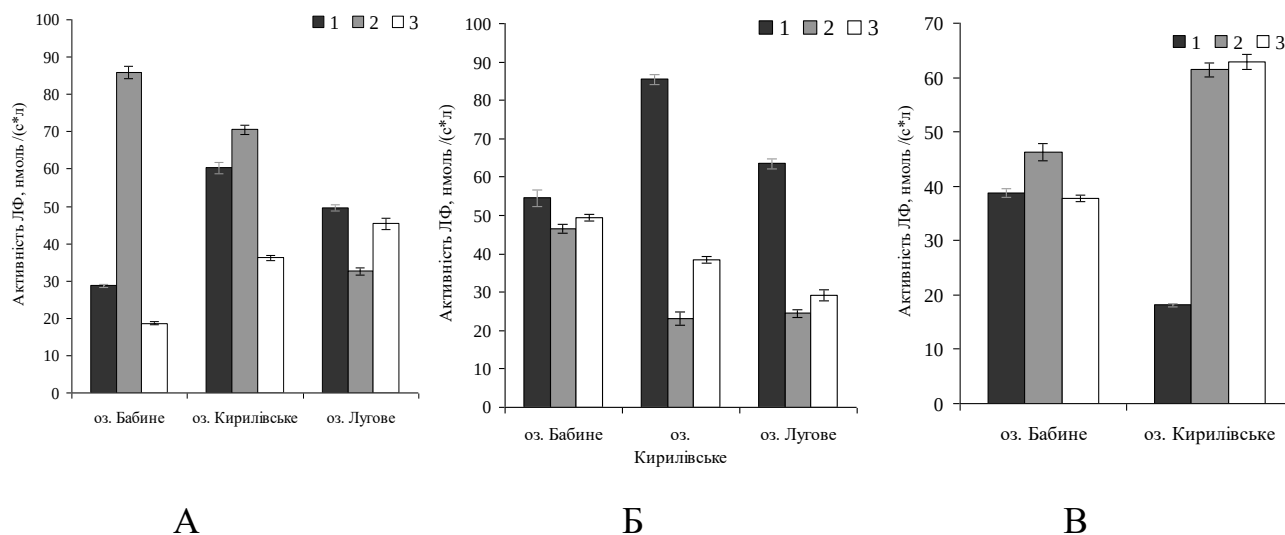


Рис. 5.4.3.1. Активність лужної фосфатази у м'язах (1), печінці (2) та з'ябрах (3) карася (А), краснопірки (Б) та плітки (В) з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

Таким чином, у карася та краснопірки в тканинах печінки та м'язів і у карася та плітки в тканинах з'ябрових пелюсток активність ЛФ мала схожу закономірність змін залежно від умов існування риб. Це вказує на схожу міжвидову стратегію у пристосуванні до несприятливих екологічних умов існування. Протилежні карасю та краснопірці зміни у активності ЛФ були встановлені у плітки, які пов'язані з еколого-фізіологічними особливостями цього лімнофільно-реофільного виду.

5.4.4. Активність основних ферментів азотного обміну в корошових риб за дії надмірного антропогенного забруднення.

За результатами проведених досліджень було встановлено, що активність аспаратамінотрансферази (АсАТ) у м'язах та печінці карася з оз. Кирилівське була вище на 20 та 19 %, а з оз. Лугове на 16 та 8 % відповідно, відносно риб з оз. Бабине (Рис. 5.4.4.1.).

У краснопірки з оз. Кирилівське у тканинах м'язів та печінки активність АсАТ була на 5 та 30 % нижче порівняно до контролю. У цього виду з оз. Лугове у м'язовій тканині не спостерігалось суттєвих відмінностей від

контролю, разом з тим у тканині печінки активність АсАТ була на 13 % нижча, щодо умовного контролю.

У плітки з оз. Кирилівське активність АсАТ не мала суттєвих відмінностей у активності щодо контролю.

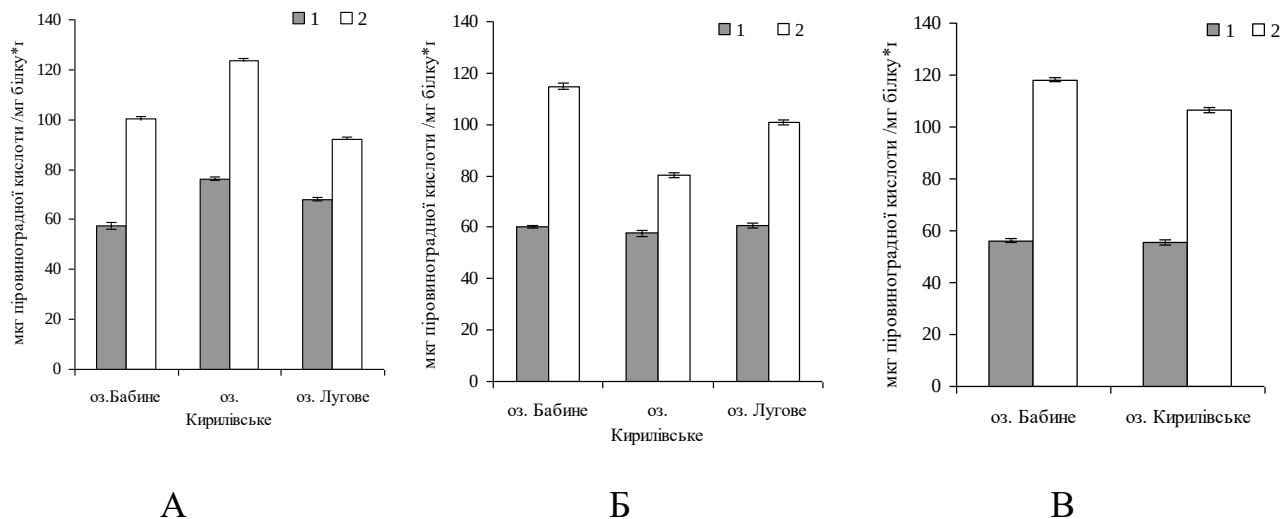


Рис. 5.4.4.1. Активність аспартатамінотрансферази у м'язах (1), печінці (2) карася (А), краснопірки (Б) та плітки (В) із оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

Встановлено, що у карася активність АЛАТ у тканині м'язів з оз. Кирилівське була у 1,5 рази нижча, а з оз. Лугове на 16 % вища, відносно контролю. У тканині печінки цих риб активність зазначеного ферменту була у 47,9 та на 22,0 %, нижчою відповідно відносно контролю (Рис. 5.4.4.2.).

У краснопірки з оз. Кирилівське, активність цього ферменту тканинах м'язів та печінки була нижче на 34,9 та 33,8 %, а з оз. Лугове, навпаки, вище на 16,0 та 22,0 % відповідно щодо контролю.

У плітки з оз. Кирилівське спостерігалась схожа закономірність, що й у краснопірки із цього ж озера. Так, у м'язовій тканині активності АЛАТ була у межах похибки відносно контрольних значень, а у тканинах печінки на 20 % нижче відносно контролю.

Відомо, що збільшення активності АЛАТ відбувається при порушенні внутрішньої структури гепатоцитів та підвищенні проникності мембрани клітини [210]. Зниження активності АЛАТ також може вказувати на значну

кількість клітин, що зазнали ураження через періодичне надходження токсичних речовин до організму риб. Це могло вплинути на функціональну активність клітин печінки та на процеси пов'язані із мобілізацією систем спрямованих на детоксикацію токсичних речовин, що могло відобразитись на змінах індексів печінки (див. Рис. 6.1.1).

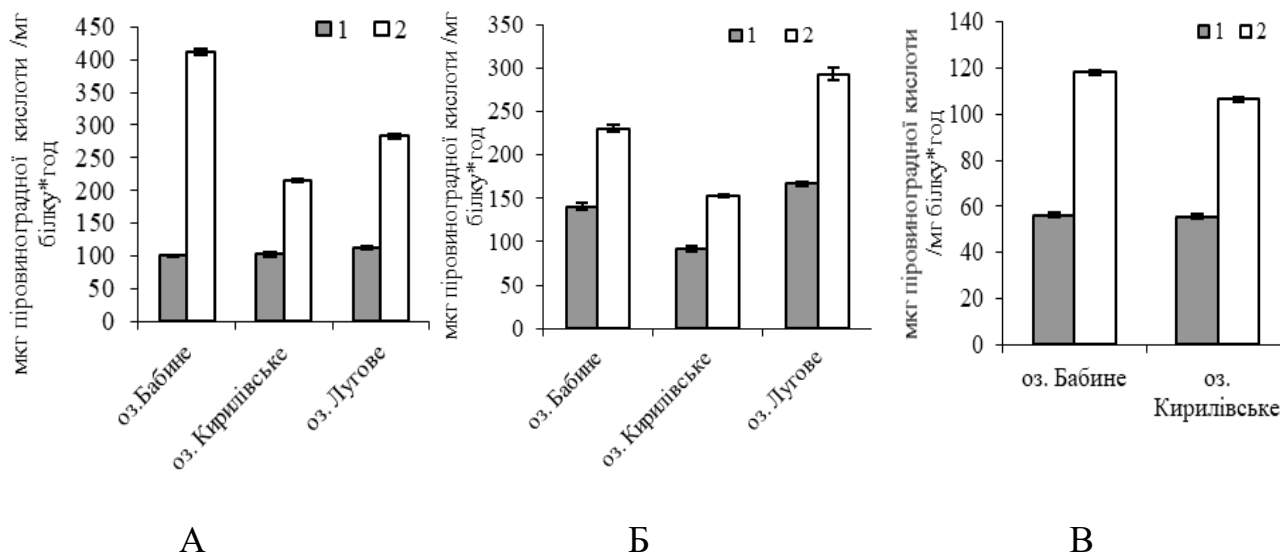


Рис. 5.4.4.2. Активність аланінамінотрансферази у м'язах (1), печінці (2) карася (А), краснопёрки (Б) та плітки (В) із оз. Бабине, Кирилівське та Лугове, $M \pm m$, $n=6-8$.

Коефіцієнт де Рітиса у м'язовій тканині карася з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове становив 0,66; 0,74 та 0,60, а у тканинах печінки 0,24; 1,00 та 0,32. Це може вказувати на специфіку екологічних умов існування риб на період досліджень. У краснопёрки з оз. Бабине, Кирилівське та Лугове коефіцієнт де Рітиса у тканині м'язів становив 0,42; 0,62 та 0,36, а у тканинах печінки 0,49; 0,52 та 0,34.

Коефіцієнт де Рітиса у плітки з оз. Бабине у тканинах м'язів та печінки був 0,69 та 0,24, а у плітки із оз. Кирилівське – 0,66 та 0,27. Враховуючи те, що ферменти АЛАТ та АсАТ в організмі риб виконують подібні функції, вони можуть взаємозаміщувати один одного і це, у свою чергу, визначає їх співвідношення у тканинах печінки та м'язів. Незалежно від того, у яких конкретно екологічних умовах (кормова база, інтенсивність забруднення тощо)

перебували досліджувані нами угруповання риб, було встановлено, що коефіцієнт де Рітіса нижче норми [135].

Встановлено, що у м'язах карася з оз. Кирилівське та Лугове активність ГДГ була вище на 6,5 та 20,0 %, а у тканинах печінки нижче на 29 та 41 %, відповідно, щодо контролю. Згідно даних [178] зростання активності ГДГ може вказувати на посилене використання амінокислот на адаптивні реакції риб. У м'язовій тканині краснопірки з оз. Кирилівське та Лугове активність ГДГ була нижчою на 45 та 31 %, ніж у риб з умовного контролю. У тканинах печінки цих риб з оз. Кирилівське активність ферменту була на 31,5 % вище, а з оз. Лугове у 56 % нижче, щодо краснопірки з оз. Бабине (Рис. 5.6.3). У плітки з оз. Кирилівське активність ГДГ у м'язах була у 2,2 рази вища, а у тканинах печінки у 2,2 рази нижча, відносно контролю, що схоже з активністю зазначеного ферменту в карася та краснопірки із оз. Лугове. Це може бути обумовлено тканинною специфічністю зазначеного ферменту залежно від впливу екологічних умов існування.

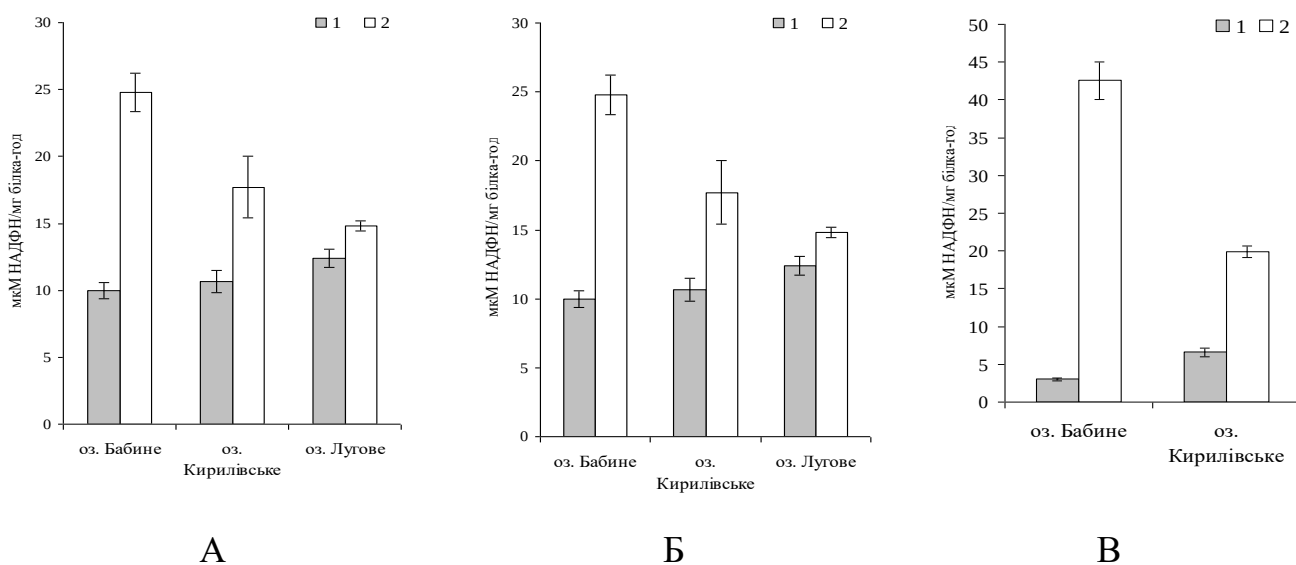


Рис. 5.6.3. Активність глутаматдегідрогенази у м'язах (1) та печінці (2) у карася (А), краснопірки (Б) та плітки (В) з оз. Бабине (І), Кирилівське (ІІ) та Лугове (ІІІ), $M \pm m$, $n=6-8$.

Потрібно зауважити, що іншими дослідниками також було встановлено високу активності ГДГ у м'язах коропових риб за впливу високих концентрацій алохтонного азоту [118]. Такі процеси можуть відбуватись за рахунок

катаболізму білків, які використовуються як енергоємні сполуки. Оскільки білки гідролізуються до амінокислот з наступним їх дезамінуванням, то у процесі їх катаболізму продукується ендогенний аміак, що зв'язується з глютаміном за допомогою ГДГ [118].

Таким чином, отримані результати вказують на суттєві відмінності у різних видів риб у активності ферментів азотного обміну, які залежать від інтенсивності та рівня антропогенного забруднення. Крім того, зміни зазначених ферментів вказують на процеси проходження білкового обміну та функціональної активності клітин печінки в умовах хронічного стресу на фоні довготривалого забруднення водойм.

Висновки до розділу 5.

Встановлено, що тривале існування коропових риб у водоймах під впливом різного ступеню антропогенного забруднення призводить до морфофізіологічних та фізіолого-біохімічних наслідків, які проявляються передусім у змінах індексів внутрішніх органів, зокрема на зменшенні індексів печінки у карася та краснопірки з оз. Кирилівське та плітки, у якої цей показник був більшими, ніж у риб з умовного контролю.

Також у карася та краснопірки із дослідних озер була менша вгодованість, проте у плітки – більша, ніж у цих риб з оз. Бабине. Через це, дослідні види відрізнялись від контрольних особин темпами лінійно-масового росту, які у карася та краснопірки із забруднених озер були нижчими, а у плітки з оз. Кирилівське – більшим, ніж у цього виду з оз. Бабине.

Крім того, наслідки антропогенного забруднення позначились на показниках які характеризують репродуктивні властивості риб, зокрема на індивідуальній абсолютній плодючості карася, яка зростала залежно від інтенсивності антропогенного забруднення. Це також відобразилось на біохімічному складі ікри цих риб, зокрема на меншому вмісті ліпідів та глікогену, проте більшому, ніж у контролі, вмісті білка. Що може вказувати на адаптивний перерозподіл білкових та амінокислотних резервів організму риб.

Наслідком довготривалої адаптації риб до антропогенного забруднення водойм стали істотні зміни у гормональному фоні досліджуваних видів риб. Так, у карася та плітки був менший вміст ТЗ, що призвело до заощадження енергетичних ресурсів за впливу негативних чинників. На противагу цьому, в краснопірки вміст цього гормону був вищим, ніж у риб з оз. Бабіне (у 2,2 рази з обох забруднених водойм). Це свідчить про іншу стратегію адаптації цього виду до діючих чинників. Збільшення вмісту ТЗ істотно вплинуло на зміни у рівні Т4, який конвертується у ТЗ. На противагу цьому, в краснопірки з оз. Кирилівське вміст цього гормону був вищим, ніж у контролі (у 2,1 рази). Це вказує на наявність стресових реакцій і при довготривалому перебуванні риб у антропогенного забрудненій водоймі. Крім того, гормональний фон у дослідних риб підтверджує видоспецифічні реакції різних видів за ідентичних умов існування. Це також відобразилось на рівні глюкози у плазмі крові дослідних риб, яка активно залучається за умов хронічного стресу, що викликаний забрудненням води. У подальшому це знайшло своє підтвердження у змінах вмісту енергоємних сполук та активності низки ферментів.

Було встановлено, що за впливу несприятливих екологічних умов у тканинах дослідних риб накопичується менше ліпідів та глікогену, що обумовлено їх використанням для задоволення енергетичних потреб при подоланні токсичного навантаження. Про значний негативний вплив антропогенного забруднення водойм свідчить підвищений вміст МДА у печінці риб, зокрема карася та краснопірки.

Сила антропогенного забруднення та специфіка найпоширеніших токсичних речовин у водоймі сприяло домінуванню аеробних процесів енергопостачання над анаеробними, зокрема у м'язовій тканині та у тканинах печінки карася і краснопірки. У плітки із оз. Кирилівське теж спостерігалась схожа закономірність, проте у тканинах печінки та зябер.

Разом з тим, у краснопірки з оз. Лугове за дії різноманітних токсикантів у зябрових пелюстках підвищується активність ЛДГ (на 15,5 %). Це свідчить про особливу чутливість або вразливість зябрових клітин цього виду риб на забруднення навколишнього середовища. До того ж у риб, які перебували під

негативним впливом зовнішнього середовища були встановлені суттєві відмінності у активності АТФ-ази. Так у карася з оз. Кирилівське активність цього ферменту була нижчою (на 58,5 %), а у карася з оз. Лугове – вищою (на 68,3 %), у краснопірки із зазначених озер активність АТФ-ази була протилежною карасю, а плітка з оз. Кирилівське мала вищу активність (на 4,5 %), ніж зазначені види з оз. Бабине, адже за впливу токсичних речовин спостерігаються зміни у процесах регуляції йонного обміну.

У свою чергу, активність ЛФ у зябровій тканині карася з оз. Кирилівське та Лугове та плітки з оз. Кирилівське була вищою (на 48,0 та 59,0 і 39,9 %, відповідно), а у тканинах печінки карася та краснопірки з оз. Кирилівське та Лугове – нижчою (на 17,0 та 85,3 % і 50,0 та 47,3 %, відповідно), відносно контролю, що наголошує на тому, що ЛФ є маркерним ферментом, який вказує на чутливість риб до різного рівня забруднення.

У риб, які перебували у несприятливих екологічних умовах, було встановлено істотні зміни у активності ферментів азотного обміну. Так, залежно від сили антропогенного впливу, переважно зменшувалась активність амінотрансфераз та ГДГ, які відображають функціональний стан клітин печінки, адже активність амінотрансфераз вказує на направленість синтезу та катаболізму білка в тканинах риб, а також вказує на рівень енергетичних процесів та загальну активність метаболізму, який у риб із забруднених водойм був меншим.

В процесах тривалої адаптації риб до антропогенного порушення водних екосистем формуються нові адаптивно-компенсаторні реакції організму, в першу чергу, змінюються процеси гормонального та ферментативного регулювання обміну речовин риб. Це дозволяє окремим видам риб створювати стійкі до токсикантів різної хімічної природи популяції окремих видів риб. Ці популяції характеризуються меншими темпами росту, але здатні відтворюватися у змінених умовах існування. Найбільш вразливими до хронічного забруднення видами риб з досліджених виявилась плітка звичайна, а найбільш опірним – карась сріблястий.

Основні положення розділу викладено у наступних публікаціях: [67, 68, 71, 72].

РОЗДІЛ 6

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Підсумовуючи отримані результати, можна стверджувати, що досліджені коропові риби відрізняються між собою за фізіолого-біохімічними реакціями за дії антропогенного забруднення. Таким чином, у риб формуються видоспецифічні пристосувальні стратегії до несприятливих умов існування.

Для того щоб з'ясувати, за яким принципом у коропових видів риб здійснюється добір стійких особин за дії токсичних речовин, у лабораторних умовах було проведено низку гострих та хронічних досліджень і встановлено, що за впливу сублетальних та летальних концентрацій дихромату калію 2,5–25,0 мг/дм³ та фенолу 0,01–5,0 мг/дм³ реакція риб залежала від хімічної природи токсиканту та їх концентрацій. Так, під впливом фенолу ознаки отруєння у риб проявились досить швидко (впродовж першої години експозиції), тоді як за впливу дихромату калію реакція риб настигла дещо пізніше (на 4-ту годину). У подальшому, за хронічного впливу токсичних речовин вибірка гірчака розподілилась на вразливих, витривалих та стійких. Частка стійких особин риб, які гіпотетично могли б сформувати нову стійку популяцію за дії фенолу становила 12,0 %, а за дії дихромату калію – 9,0 %. Варто відзначити, що загибель амурського чебачка за впливу обох токсикантів відбувалась рівномірно та збільшувалась залежно від концентрації та тривалості перебування в токсичному середовищі. На кінець досліджень кількість стійких особин чебачка за найбільших концентрацій дихромату калію та фенолу становила 6 та 78% відповідно.

Перш за все, вплив токсичних речовин позначився на вмісті гормонів у плазмі крові стійких груп риб. Так, незалежно від хімічної природи токсикантів, відносно контролю встановлено зростання вмісту кортизолу. Проте, слід зазначити, що за впливу фенолу його вміст був значно вищий, ніж за дії дихромату калію. Це свідчить, що за менших дослідних концентрацій фенол більш активний стрес-агент, хоча за його дії у концентрації 5,0 мг/дм³ виживаність гірчака європейського становила 6%, а амурського чебачка – 78%.

У риб, які стійкі до дії дихромату калію та вижили в умовах експерименту, вміст тиреоїдних гормонів у крові, зокрема Т4, знижувався по мірі зростання концентрацій токсиканту. Іншими авторами були отримані аналогічні результати щодо судака за вмістом Т4 у плазмі крові за дії дихромату калію у концентрації 10,0 та 12,5 мг/дм³, що вказує на більшу пригніченість клітин риб, які виконують функцію щитоподібної залози, та його перетворення у більш активний Т3 [304]. Проте, реакція риб на дію фенолу була протилежною дії дихромату калію і позначилась на збільшенні рівню тироксину по мірі збільшення концентрацій фенолу (0,01-5 мг/дм³).

Рівень гормонів у крові спричиняють істотні зміни у вмісті енергоємних сполук. Було встановлено високий рівень використання глюкози та ліпідів як енергетичних ресурсів на пристосування риб до токсичного середовища. Натомість, у дослідженнях інших авторів, вміст глюкози у плазмі крові судака за впливу дихромату калію та фенолу був більшим, ніж у контролі [300], що може вказувати на міжвидову специфічність дослідних риб, зокрема мирних та хижих видів [304].

Наслідком гуморальної регуляції адаптивних процесів у риб до дії токсикантів стало зростання активності основних ферментів енергетичного обміну (ЛДГ та СДГ). Саме вони відповідають за забезпечення необхідної кількості енергії різними шляхами енергогенерування, спрямованого на підвищення життєстійкості риб за токсичного ураження. Крім того, у піддослідних риб зростає активність ферментів азотного обміну (амінотрансфераз та ГДГ) у печінці. Це свідчить про напружений стан цього органу та активну детоксикацію з подальшим виведенням токсикантів з організму. Підтвердженням цього також є більша активність ЛФ у м'язах, зябрах та печінці гірчака за дії фенолу. Саме цей показник вважається чисельними дослідниками індикатором наявності стресу та пошкодження тканин печінки. Зростання активності цього ферменту вказує на напружений стан тканин та органів гірчака та чебачка за впливу як дихромату калію, так і фенолу.

Отримані результати модельних експериментів з впливу конкретної діючої речовини показали, що незалежно від природи токсиканту дихромат калію та фенол суттєвим чином впливають на життєстійкість та фізіолого-біохімічний стан дослідних риб. Для з'ясування процесів пристосування корокових риб у природних умовах був проведений наступний дослід з впливу амонійного азоту (як домінуючого токсиканту) на карася сріблястого, який існував від 3-х місяців до 20 рр. за високих концентрацій його сполук. Була встановлена низка фізіологічних відмінностей у риб із різних дослідних груп. Так, найменші коефіцієнти вгодованості, відносно риб із контрольної водойми, спостерігались у карася, який існував впродовж 3-х років за середніх концентрації амонію $24,3 \text{ мг N/дм}^3$ (на 16 %). Зі збільшенням тривалості перебування риб у забруднених умовах у карася підвищувалася абсолютна індивідуальна плодючість. Проте, гонадосоматичний індекс був меншим, що пояснюється різними термінами проходження порційного нересту у риб. Крім того за дії надмірних концентрацій йонів амонію зменшується індекс печінки і селезінки. Можливо це пов'язано із структурно-функціональними змінами у тканинах цих органів [42].

Як результат протидії несприятливим умовам існування, викликаних надмірним вмістом азотних сполук, змінювався рівень гормонів у плазми крові, що у подальшому відобразилося на біохімічних показниках риб. Встановлено, що вміст кортизолу в плазмі крові риб був більшим порівняно до контролю. Проте, величина вмісту кортизолу залежала від терміну перебування риб у складних екологічних умовах. Для риб, які перебували у забрудненій водоймі протягом 3-х місяців, вміст кортизолу збільшився на 41,8 %, протягом 3-х років на 22,8 %, а протягом декількох поколінь на 6,2 %. Це яскраво свідчить про спрямованість адаптаційних процесів у риб. По мірі пристосування впродовж певного часу карась у меншій мірі підлягав дії хронічного стресу. Схожі результати були отримані іншими дослідниками стосовно зміни рівня кортизолу в піддослідних групах коропа, що також перебував у водоймах із різним вмістом азотних сполук [118].

Крім того були встановлені істотні зміни у рівні тиреоїдних гормонів (Т3 та Т4) у плазмі крові карася при різних умовах існування. Встановлено, що вміст тироксину в плазмі крові риб із забруднених водойм зменшувався у 1,97–2,19 разів порівняно до контролю, та не залежав від терміну адаптації риб до впливу надмірних концентрацій амонійного азоту. Збільшення рівня Т3 у крові пов'язано із необхідності посиленого енергозабезпечення риб, які тривалий час перебувають у забруднених водоймах, та необхідності постійного виведення надлишку аміаку з тканин. Активна мобілізація енергоресурсів за дії високих концентрацій неорганічного азоту впливає на темпи росту риб та змінює індекси внутрішніх органів. Саме у цих процесах задіяні тиреоїдні гормони [193]. Безперечно, за цих умов при найбільш тривалому перебуванні збільшується споживання кисню тканинами риб та активізується загальний обмін в організмі карася.

Встановлено, що у карася не залежно від терміну перебування у забрудненої водоймі зменшується вміст глюкози у плазмі крові, що вказує на підвищену потребу в енергетичних ресурсах для забезпечення протікання процесів детоксикації та виведення токсичних речовин з організму риб [115].

Оскільки досліджені гормони здатні перерозподіляти енергоємні сполуки та регулювати їх використання на потреби організму, тому в карася змінюються й процеси накопичення запасних речовин. Встановлено, що за тривалого впливу (більше 3-х років) сполук амонію у карася в меншій мірі накопичуються ліпіди у тканинах. Проте, у цих риб наявний більший вміст глікогену в тканинах печінки порівняно до контролю. Разом із тим, менший вміст загального білка у м'язовій тканині спостерігався лише у карася, який існував у забрудненій водоймі впродовж 3-х років. У інших піддослідних групах його вміст був на рівні контролю. Така стратегія пристосування до погіршення умов існування зумовлена використанням передусім ліпідів. У процесі розпаду ліпідів, завдяки гліконеогенезу утворюється значна кількість глікогену.

У риб, які існували у водоймах за середньої концентрації амонію 24 мг N/дм³ впродовж 3-х місяців та 3-х років, було встановлено істотні зміни у активності основних ферментів енергетичного обміну (СДГ та ЛДГ). Так, у

тканинах м'язів карася активність СДГ була вищою, а у тканинах печінки – нижчою, ніж у контролі. Також встановлено зниження активності ЛДГ у м'язах та печінці у цих риб. Такі процеси можуть вказувати на зростання енергетичних затрат, які можуть супроводжуватися посиленням аеробних окисно-відновних процесів у тканинах м'язів карася за коротко- та середньострокового періоду перебування у забруднених водоймах.

У карася з популяції, яка адаптувалася до забруднення води впродовж 20-ти р., зміна в активності ферментів енергетичного обміну дещо відрізнялась від попередніх 2-х груп риб. Так, активність СДГ та ЛДГ була вищою у тканинах печінки у 2,7 та 7,0 разів, а у зябрових пелюстках активність ЛДГ була вище на 36%, ніж у контрольній групі риб. Отже, за довготривалого перебування у токсичних умовах в карася спостерігається активізація енергетичного обміну, що надає цим риbam високі можливості для адаптації до складних умов існування.

У риб, які тривалий час перебували під токсичним впливом, посилюється йонний обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем, у зябрах активність K^+ , Na^+ -АТФ-ази збільшується на 28–40 % порівняно до контролю. Аналогічні зміни у активності цього ферменту спостерігали й інші дослідники за впливу токсичних сполук [330].

У риб, які перебували у забрудненій водоймі продовж декількох поколінь, активність маркерного ферменту – ЛФ була вищою як у тканинах печінки так і в тканинах м'язів і зябер у 2,38 і 12 разів та на 26 % відповідно, порівняно до контролю. Це свідчить про активацію фосфорного обміну в тканинах карася із зазначених груп. У свою чергу, у риб, які знаходились під впливом високих концентрацій йонів амонію протягом 3-х місяців та 3-х років, активність ЛФ у зябрах та печінці була меншою за контрольні величини. Це вказує на те, що за довготривалого впливу сполук неорганічного азоту в карася істотно змінюється фізіологічний стан зябер та печінки, що дозволяє цим риbam існувати у вкрай важких екологічних умовах. Слід зазначити, що у зазначеній водоймі не зареєстровано на період досліджень інших видів риб.

Зміна функціонального стану печінки також підтверджується зростанням активності амінотрансфераз. При довготривалому перебуванні риб за надмірних концентрацій амонійного азоту збільшилась активність АсАТ та АлАТ у печінці карася, що свідчить про посилення процесів трансамінування в цьому органі. Також це спостерігається і у м'язовій тканині. У зябрових пелюстках активність АсАТ та АлАТ були нижчими або відповідали контрольній групі. Разом з тим, активність ГДГ у тканинах печінки карася із усіх піддослідних груп була меншою на 1,75; 1,6 та у 4,5 рази відповідно, ніж у контролі. Пригнічення активності цього ферменту може бути зумовленим залученням інших шляхів протидії потенційно-агресивному середовищу. Проте, за довготривалої адаптації риб до токсичного середовища істотно підвищувалася (у 2,2 рази) активність ГДГ, що свідчить про активне залучення азотного обміну в процесі дезамінування задля виведення надлишкового аміаку в зовнішнє середовище.

У подальшому з метою визначення закономірностей формування стійких популяцій коропових риб в умовах комплексного забруднення різними видами токсичних речовин антропогенного походження були проведені дослідження на окремих озерах м. Києва (оз. Бабине, Кирилівське та Лугове), які відрізнялись між собою різним санітарним станом.

Слід зауважити, що за даними [166] у оз. Бабине (було використане у як контрольну водойму) представлено 23 види риб, що є дещо менше видового складу іхтіофауни у оз. Кирилівське (27 видів). Це може бути зумовлено більшим розвитком кормових організмів в оз. Кирилівське, через надходження біогенних сполук у помірних кількостях. Найменший склад іхтіофауни спостерігався у оз. Лугове, яке у більшій мірі підлягає антропогенному тиску. Це засвідчують дані стосовно вмісту нафтопродуктів у поверхневих та придонних шарах водойми.

За дії посиленого антропогенного забруднення у риб істотно змінюються фізіологічні та морфо-фізіологічні показники. Найбільші коефіцієнти вгодованості спостерігались у краснопірки і карася, які існували у водоймі, яка

не зазнає істотного антропогенного навантаження (оз. Кирилівське). Втім, для плітки ці коефіцієнти були вищими при помірному забрудненні водойми.

По мірі посилення антропогенного тиску в карася збільшується абсолютна плодючість. Так, у риб із оз. Лугове вона зростала у 2,4 рази порівняно до умовного контролю. Проте, ооцити характеризувалися меншим вмістом ліпідів та глікогену, вміст білка в них був дещо більшим. Збільшення абсолютної індивідуальної плодючість може вказувати на компенсаторний механізм підтримки чисельності риб в озерах у відповідь на забруднення води. Це особливо важливо оскільки на ранніх етапах розвитку можливо значне зниження життєстійкості ембріонів та личинок. Відмінності у біохімічному складі ооцитів можуть бути пов'язані як з різними стадіями дозрівання гонад, так і з залученням більшої кількості енергомістких сполук для підтримки організму за критичних умов існування.

Показовими виявились індекси внутрішніх органів, які змінювалися залежно від рівня забруднення води. Індекс печінки відображав загальний фізіологічний стан її тканин, а також структурно-функціональну активність. Підтвердженням цього є вищий індекс цього органу в плітки та краснопірки із забруднених водойм, що вказує на посилену детоксикацію забруднюючих речовин у цій тканині. В той же час, індекс печінки не змінювався у карася навіть при істотному забрудненні води в оз. Лугове.

При надмірному забрудненні водойм у карася та краснопірки істотно знижувався індекс селезінки. Це також може вказувати на несприятливі для риб умови існування в оз. Кирилівське та Лугове. Оскільки депонування крові у селезінці було знижено, то відбулись структурно-функціональні зміни цього органу при помірному та інтенсивному антропогенному забрудненні в дослідних озерах системи «Опечень».

В несприятливих умовах існування у риб суттєво змінилась гуморальна регуляція обміну речовин, яка беззаперечно, відіграє головну роль при тривалій адаптації риб до антропогенного забруднення середовища існування. Вміст кортизолу в плазмі крові карася та плітки істотно знижувався по мірі посилення токсичного навантаження. Це свідчить про те, що постійне надходження

забруднюючих речовин не викликають у цих риб стрес-реакції і вони достатньо успішно адаптувалися до умов водойми. Проте, у краснопірки із забруднених водойм вміст кортизолу був значно вищим, ніж у контролі. Це вказує на те, що краснопірка знаходяться у постійному стресі, що може позначитися на перебудові енергетичного обміну, за умов надмірного та помірного забруднення.

Встановлено, що у карася та плітки, які тривалий час перебували під тиском антропогенного забруднення, спостерігається менший вміст ТЗ у плазмі, а у краснопірки – більший. Вищий вміст ТЗ може бути зумовлений посиленням окисно-відновних процесів у краснопірки, яка існувала у забрудненому середовищі. Це дозволяє цьому виду частково пристосовуватися до постійного забруднення води.

Таким чином, різні види риб реагують на антропогенне забруднення видоспецифічно, у карася та плітки встановлено уповільнення обмінних процесів, а у краснопірки – посилення. Вміст Т4 у плазмі крові коливався залежно від екологічних умов, а саме рівня та інтенсивності антропогенного забруднення. Загалом, зміни у рівні ТЗ та кортизолу в крові свідчать на користь видових відмінностей між дослідними видами риб за гормональною відповіддю на комплексне антропогенне забруднення.

В риб, які існували в дослідних озерах системи «Опечень» був значно менший вміст запасуючих речовин у тканинах печінки. В карася з оз. Кирилівське вміст глікогену був меншим у 2,8 рази, ніж у контролі і накопичення ліпідів у всіх піддослідних видів риб теж було меншим, ніж у контролі (у 2,0–2,7 рази).

Менше накопичення енергоємних сполук вказує на незадовільний екологічний стан у досліджених забруднених озерах. Крім того, отримані нами результати співпадають із результатами інших дослідників, якими також було встановлено значно нижчий вміст енергомістких сполук, зокрема глікогену, білка та ліпідів у печінці окуня із оз. Кирилівське у весняний та осінній періоди [112].

Незначне накопичення ліпідів та глікогену в тканинах також призводить до того, що риби із за негативних умов оточуючого середовища мають менші розмірно-масові показники. Що пов'язано з використанням енергоємних субстратів для підтримки нормального функціонування організму риб у несприятливих умов існування.

Наявність стресового стану в риб з оз. Кирилівське та Лугове була підтверджена вмістом МДА. У тканинах печінки карася та краснопірки із оз. Кирилівське його вміст був більшим, ніж у риб з оз. Бабине. Результати наших досліджень узгоджуються із попередніми дослідженнями інших авторів стосовно вмісту МДА у тканинах печінки верховодки, окуня та йоржа з оз. Кирилівське [306]. Це вказує на наявність несприятливих умов у бенталі та середньому шарі води озер, зокрема високий вміст нафтопродуктів та важких металів.

Екологічні умови досліджених озер позначаються й на перебігу біохімічних реакцій у риб, зокрема на активності ферментів енергетичного, фосфорного та азотного обмінів.

Піддослідні коропові риби із дослідних забруднених озер переважно мали вищу активність СДГ у тканинах м'язів, печінки та зябрах, ніж у контролі. Схожа тенденція спостерігалась при проведенні хронічного модельного експерименту в гірчака за впливу дихромату калію. Разом з тим, у карася та краснопірки не було встановлено істотних відмінностей у активності ЛДГ. Проте, у плітки із оз. Кирилівське, активність цього ферменту в тканинах м'язів, печінки та зябер була нижче на 11,5; 11 та 16 % відповідно, ніж у плітки з оз. Бабине. Тому, зі збільшенням інтенсивності антропогенного забруднення у риб збільшуються аеробні окисно-відновні процеси, які супроводжуються вищою активністю СДГ.

Крім того, залежно від рівня антропогенного забруднення змінюється активність Na^+/K^+ -АТФ-ази в тканинах зябрових пелюсток досліджуваних видів риб, яка залежала від фізіологічних особливостей виду, від специфіки та рівня токсичного навантаження на озера. Разом з тим, найбільш характерні відмінності були встановлені у краснопірки з оз. Кирилівське, в якій активність

зазначеного ферменту була нижче на 79,1 %, а у краснопірки з оз. Лугове, навпаки, вища на 30,6 %, ніж у риб з оз. Бабіне. Це підтверджує внутрішньовидову специфіку регуляції йонного обміну в тканині зябрових пелюсток.

Також надійним індикатором, що відображає ступінь інтоксикації організму токсичними речовинами (зокрема, тканин печінки), виявилася зміна активності ЛФ (фосфорний обмін), що залучена у різні обмінні процеси та забезпечує надходження фосфору для нормального метаболізму клітин [279]. Встановлено, що у карася та краснопірки із забруднених водойм у печінці та м'язах, а у карася та плітки і в тканинах зябрових пелюсток були посилені процеси фосфорилювання, на що вказувала підвищена активність ЛФ. Це свідчить про схожу міжвидову стратегію пристосування карася та краснопірки до несприятливих екологічних умов.

Функціональний стан печінки піддослідних риб, як органу, що відповідає за детоксикацію та виведення токсичних речовин, які потрапляють в організм, був проаналізований за активністю амінотрансфераз та глутаматдегідрогенази.

Встановлено, що у карася, краснопірки та плітки активність АсАТ, АлАТ та ГДГ у тканинах печінки риб переважно була меншою, ніж у контролі. Такі результати можна розглядати як адаптивно-компенсаторну реакцію піддослідних видів, яка спрямована на забезпечення існування риб у водоймах з різним ступенем токсичного забруднення. Все ж, отримані результати не узгоджуються з результатами модельних досліджень, адже токсикологічні експерименти не здатні об'єктивно відтворити фізіолого-біохімічні реакції риб, які відбуваються в природних умовах за комплексного впливу токсикантів різної хімічної природи. Це підтверджує важливість проведення моніторингових досліджень загального стану гідробіонтів, які існують у водоймах, що зазнають різноманітного впливу забруднюючих речовин.

Порівнюючи між собою дві географічно ізольованих популяції карася сріблястого із дендропарку «Олександрія» (м. Біла Церква) та із оз. Лугове (м. Київ), можна побачити, що ці риби мають схожі фізіолого-біохімічні закономірності пристосування до несприятливих умов.

Передусім, слід зазначити, що у водоймах із несприятливими умовами (забруднений став дендропарку «Олександрія» та із оз. Лугове) у карася спостерігаються менше накопичення ліпідів у тканинах порівняно з умовним контролем. Крім того, зниження вмісту ліпідів у тканинах печінки також зазначалося й для карася із урбанізованої ділянки р. Сирець [94]. Зменшення вмісту ліпідів може свідчити про вплив хронічного забруднення водойми у різних популяціях карася незалежно від специфічної дії різних токсикантів. Внаслідок цього посилюються процеси додаткового використання енергетичних ресурсів, що позначилось на зменшенні розмірно-масових показних цих риб. Також були встановлені відповідні зміни у активності ферментів, що залучені у пристосувальних процесах для коригування обмінних процесів. У карася незалежно від типу забруднення зростала активність СДГ у тканинах печінки та м'язів та ЛДГ у тканинах м'язів, печінці та зябер. Це вказує на наявність енергозатратних процесів в організмі риби, що супроводжується активним посиленням аеробних окисно-відновних процесів та процесів фосфорилювання. Слід зазначити, що активність ЛДГ у м'язовій тканині була нижчою, ніж у риб із контрольних водойм, крім того, змінювалась і активність ГДГ у печінці.

Разом з тим, карась із різних дослідних популяцій мав низку фізіолого-біохімічних відмінностей у індексах селезінки, вмісті ТЗ в плазмі крові та за активністю амінотрансфераз у печінці. Перелічені показники були більшими за впливу амонійного азоту, але меншими за дії комплексного забруднення міського озера. Тому пристосувальна стратегія карася за багатфакторних чинників посиленого антропогенного навантаження звелась до інгібування обмінних процесів, але за дії амонійного азоту навпаки – прискорення. Однак більша активність Na^+/K^+ -АТФ-ази спостерігалась у зябрах карася з оз. Лугове, тоді як за дії сполук амонійного азоту цей фермент був меншим, ніж у контрольної групи риб. Це вказує на те, що забруднення нафтопродуктами та іншими токсичними речовинами викликає у зябрових клітинах карася підвищення йонного обміну, тоді як сполуки амонійного азоту не вплинули на

зміни активності цього ферменту в зябрах карася, який тривалий час існував у цьому ставку.

Тому, можна припустити, що за довготривалого існування (впродовж багатьох поколінь) в несприятливих умовах у карася сріблястого були встановлені відмінності щодо перебігу метаболічних процесів, відносно контрольної групи та різними популяціями цього виду, втім спостерігається і схожість в адаптивних стратегій до несприятливих умов.

У краснопірки та карася із забруднених озер простежується схожа зміна активності ферментів енергетичного, фосфорного та азотного обміну в різних тканинах, порівняно до контролю. Це свідчить про подібність біохімічної відповіді вказаних видів риб, спрямованої на протидію потенційно-агресивному середовищу, незалежно від екологічної ніші яку вони займають. За цими показниками можна оцінювати загальний екологічний стан водойм. Як показали наші дослідження карась та краснопірка мають більші адаптивні можливості до впливу антропогенного забруднення, порівняно з пліткою. Свідченням цього є більш широкі межі у змінах активності досліджуваних ферментів краснопірки та карася.

Таким чином, пристосувальні реакції різних видів коропових риб до впливу антропогенного забруднення мають деякі міжвидові відмінності та специфіки, але низка біохімічних відповідей спільні для всіх видів.

З огляду на вищезазначене, ступінь антропогенного забруднення є визначальним фактором для біорізноманіття водойм. За дії несприятливих чинників знижується видовий склад та чисельність гідробіонтів. Разом з тим, помірне забруднення та збільшення концентрацій біогенних сполук в оз. Кирилівське призвело до збільшення чисельності та біомаси окремих видів кормових організмів, що позначилось на більшому видовому різноманітті риб цієї водойми, які займають різні екологічні ніші, порівняно з іншими досліджуваними озерами. Проте, за отриманими фізіолого-біохімічними показниками постійне надходження токсичних речовин у воду, зокрема нафтопродуктів, цинку, міді, кадмію та нікелю, викликає у риб стресовий стан та перебудови у перебігу метаболічних реакцій [28, 46, 92], які призводять до

зменшення лінійного та масового розміру дослідних риб, навіть при наявності достатньої кількості кормових об'єктів.

За отриманими даними встановлено, що в результаті тривалого існування у надмірно забруднених водоймах у риб істотно змінюється їх фізіолого-біохімічний стан. Це відобразилось у зниженні темпів лінійного та масового росту риб, зміні структурно-функціональної активності внутрішніх органів, у посиленні процесів нейрогуморальної регуляції, змінах активності ферментів та ступеню накопичення запасних речовин. Це є наслідком пристосувальних реакцій риб до несприятливих умов існування. За витривалості до несприятливих умов існування карася сріблястого можна віднести до найбільш опірного виду риб щодо токсичного навантаження. Яскравим прикладом цього є існування цього виду в екстремальних умовах існування, а саме при надмірному азотному навантаженні, де за довготривалої адаптації (впродовж декількох поколінь) утворилася стійка популяція цього виду. Ще одним підтвердженням високих адаптивних можливостей цього виду є його популяція в оз. Лугове, яка існує при надмірному забрудненні води різноманітними токсикантами. На користь цього свідчить те, що зазначений вид є субдомінантним серед придонних риб.

Краснопірка та плітка мають менш ефективні механізми пристосування щодо впливу забруднюючих речовин. Адаптивна стратегія цих видів не чітко виражена, вони не здатні долати надмірні стресові явища. Проте, за помірного антропогенного впливу (оз. Кирилівське) ці види здатні формувати стійкі популяції. Завдяки поведінковим та фізіологічним реакціям цих видів на надходження до акваторії забруднюючих речовин, вони здатні уникати зон скиду токсичних речовин.

Порівнюючи різні види коропових риб, слід зауважити, що краснопірка та плітка поступаються карасю на біохімічному рівні за адекватністю відповіді на вплив надмірного забруднення водойм. Це підтверджує особливості енергетичного обміну досліджуваних риб, зокрема висока здатність карася швидко поповнювати і використовувати енергомісткі сполуки у вигляді глікогену при несприятливих екологічних умовах середовища. Одним із

головних критеріїв популяційної адаптації карася є зміна абсолютної плодючості при помірному забрудненні водних об'єктів. Це дозволяє формувати стійкі угруповання через значну частку якісного вибракування менш життєстійких особин, що підтверджує той факт, що кількість молоді риби переважає над якістю.

Розглянуті зміни фізіолого-біохімічного стану риби дозволяють оцінити та/або спрогнозувати завдані збитки, які були спричинені екосистемам у межах міста. Це необхідно для того, щоб надмірне антропогенне навантаження, яке з роками посилюється через урбанізованість міст, не перенесло свій вплив на мало порушені водні системи заплавного типу, які відіграють важливу роль у збереженні типових угруповань риби для басейну р. Дніпро.

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень закономірностей нейрогуморального та ферментативного регулювання обмінних процесів за токсичної дії референтних токсикантів та загального антропогенного забруднення води у модельних та природних умовах були встановлені особливості формування стійких популяцій коропових риб.

На підставі отриманих даних можна сформулювати наступні висновки:

1. Встановлено, що популяції гірчака звичайного та чебачка амурського відрізняються за своєю реакцією на токсичний вплив референтних токсикантів – дихромату калію та фенолу. Амурський чебачок виявився більш резистентним до дії фенолу, а гірчак звичайний – до дихромату калію. Стійкість досліджених вибірок риб за впливу найбільших концентрацій токсикантів можна поділити на декілька умовних груп: вразливі, які гинуть від стресових явищ напочатку експерименту (31,0–52,5 % загальної чисельності); витривалі, які гинуть впродовж експерименту (38,5–57,5 %); стійкі, які успішно долають токсичне навантаження (9,0–12,0 %).
2. За хронічної дії референтних токсикантів істотно змінюється вміст гормонів у гірчака. Так, встановлено, що рівень кортизолу в крові під впливом дихромату калію та фенолу збільшується до 2-х та до 4,2 разів відповідно. Наслідком цього була зміна активності ЛФ та посилення енергетичного обміну. Так, зокрема, залежно від концентрації та виду токсиканта в дослідних тканинах риб збільшилась активність ЛДГ та СДГ на 19–55 % та 21–71 % відповідно.
3. Сублетальні концентрації дихромату калію та фенолу викликають у печінці гірчака та чебачка посилення білкового обміну. Активність АсАТ збільшується у 2,8 разів у гірчака за дії дихромату калію та у 1,2 разів у чебачка за дії фенолу відповідно порівняно з контролем. Також у дослідних риб за дії дихромату калію зростає активність ГДГ у 3,2 та 1,7 разів відповідно.

4. Незалежно від періоду токсичного впливу (3 місяці, 3 роки та 20 років) у популяціях карася китайського за дії підвищених концентрацій амонійного азоту (до 24–48 N/дм³) спостерігалось зростання абсолютної індивідуальної плодючості на 36,4–58,8%, зміни індексів внутрішніх органів, зниження темпів лінійного та масового росту. У риб активізуються процеси гормонального регулювання, посилюється енергетичний обмін (переважно за рахунок ліпідів та білку). Проте при зміні поколінь протягом 20-ти років фізіолого-біохімічний стан карася наближається до контрольних риб, хоча дослідна група характеризується більшими енерговитратами.
5. Токсичне забруднення міських озер відобразилось на морфо-фізіологічних показниках популяцій риб, які у них мешкають. Зокрема, у карася китайського і краснопірки звичайної спостерігався нижчий коефіцієнт вгодованості за Кларк (на 18,3–64,0 %). Карась із забруднених озер мав на 37–44% менший індекс селезінки та у 2,3 більшу абсолютну плодючість відносно умовного контролю. Краснопірка та плітка у помірно забрудненій водоймі характеризувались більшими на 34,0 і 16,5 % індексами печінки та на 13,0 і 16,0 % селезінки відповідно. За найбільш істотного антропогенного впливу індекс селезінки у краснопірки був меншим у 2 рази порівняно з контролем.
6. Встановлено, що для існування та підтримки чисельності популяцій в умовах антропогенного забруднення карась та плітка заощаджують енергетичні ресурси. У них уповільнюються обмінні процеси, зменшується вміст Т3 та кортизолу в плазмі крові до 2,0–4,7 разів та до 1,7–4,7 рази відповідно. Проте у краснопірки із забруднених озер відбувається посилення загального обміну, збільшується вміст Т3 та кортизолу в 2,2 рази та у 4,2 рази порівняно з умовним контролем. Спостерігаються взаємопов'язані зміни вмісту глюкози та Т3, Т4 у плазмі крові ($r = 0,73-0,94$, відповідно).
7. У карася та краснопірки із найбільш забрудненого озера спостерігали зростання вмісту МДА у печінці на 31,4–82,8 %, відносно меншим був

також вміст ліпідів (у 2,2–2,7 разів), що може бути пов'язаним з найбільш несприятливими умовами існування. Серед проявів пристосування карася, краснопіврки та плітки до токсичного навантаження було зростання активності СДГ, ЛФ у деяких тканинах. Проте відзначається видова специфічність у показниках активності Na^+, K^+ -АТФ-ази у зябрах та амінотрансфераз у печінці досліджених видів риб.

8. Карась, краснопіврка та плітка по різному пристосовуються до тривалого токсичного забруднення водного середовища. Карась із різних популяцій має схожі між собою адаптивні механізми незалежно від характеру забруднення водойми. Спостерігається посилення енергетичного обміну, що супроводжується істотним зростанням активності СДГ та певним збільшенням активності ЛДГ, активно використовуються ліпіди. Важливу участь у регуляції обмінних процесів беруть тиреоїдні та кортикостероїдні гормони. Високий рівень фізіологічної стійкості карася надає йому перевагу в пристосуваннях до нетипових чи екстремальних умов існування порівняно з іншими дослідженими видами риб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алекин О. А., Семенов А. Д., Скопинцев Б. А. Методика определения аммонийного азота и свободного аммиака. Ленинград: Гидрометеиздат. 1973, 103 с.
2. Ананьєва Т. В., Федоненко О. В., Біохімічні показники тканин деяких промислових видів риб Запорізького водосховища (Україна). *Agrobiodiversity for Improving of Nutrition, Health and Life Quality*. 2017. С. 8–13.
3. Арсан В. О. Енергозабезпечення організму коропа при адаптації до змін концентрації іонів важких металів у водному середовищі.: автореф. дис. канд. біол. наук. Київ, 2004. 20 с.
4. Арсан О., Савлущинська М., Олещук В., Сенчишин Л., Хоменчук В. Глутаматдегідрогеназна активність в тканинах коропа за дії сирової нафти. Розвиток сучасної освіти і науки: результати, проблеми, перспективи. Аксіологічні аспекти в розвитку науки та освіти, Конін - Ужгород - Херсон - Кривий Ріг, 2018. С. 369–371.
5. Арсан О. М., Давидов О. А., Дьяченко Т. М., Евтушенко М. Ю., Жукинський В. М., Кирпенко Н. І. Пашкова О. В. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод. Київ, 2006. 406 с.
6. Ахметова В. В., Васина С. Б. Оценка морфологической и биохимической картины крови карповых рыб, выращиваемых в ООО «Рыбхоз» Ульяновского района Ульяновской области. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2015. № 3 (31). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-morfologicheskoy-i-biohimicheskoy-kartiny-krovi-karpovyh-ryb-vyraschivaemyh-v-ooo-rybhoz-ulyanovskogo-rayona-ulyanovskoy>.
7. Багдай Т. В., Снітинський В. В., Антоняк Г. Л., Олексюк Н. П. Вплив кадмію та хрому (VI) та на стан антиоксидантної системи в клітинах крові коропа (*CYPRINUS CARPIO* L.). *Біологія тварин*. 2015. 17, № 1. С. 11–14.

8. Батог С. В. Еколого-гідрологічна характеристика водойм м Києва.: автореф. дис. ... канд. гео. наук. Київ, 2018. 20 С.
9. Безімова М., Прилуцька О. Динаміка вмісту білку у тканинах риб, що мешкають в умовах антропогенного навантаження. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених. “Шевченківська весна”. Випуск V Частина I. Київ, 2007. С. 6–8.
10. Беспалова Л. Е. Водна токсикологія. Херсон, 2011. 131 с
11. Будников Г. К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем. *Соросовский образовательный журнал*. 1998. № 5. С. 27–29.
12. Бикташева Ф. Х. Биохимические показатели крови рыб озера Асылыкуль (Россия, Республика Башкортостан). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2010. № 9. 108 с.
13. Бикташева Ф. Х., Латыпова Г. Ф. Гематологические показатели представителей хищных рыб природного парка – озера Асылыкуль. *Известия ОГАУ*. 2013. №1 (39). 73 с.
14. Бычкова Л. И., Симаков Ю. Г. Ихтиотоксикология. Москва. 2012. 389 с.
15. Валинурова Э. Р., Гимаева А. Р., Кудашева Ф. Х. Исследование процесса сорбции ионов хрома (III) и хрома (VI) из воды активированными углеродными адсорбентами. *Вестник Башкирского у-та*. 2009. № 2. С. 385–388.
16. Василюк О., Костюшин В., Прекрасна Є., Парнікоза І., Куцоконь Ю., Мішта А., Некрасова О., Заворотна Г., Плига А., Полянська К., Борисенко К., Буй Д. Деснянський екологічний коридор. Під заг. ред. В. Костюшина., Є. Прекрасної. К.: *НЕЦУ*, 2010. 164 с.
17. Васильева О. Б., Назарова М. А., Немова Н. Н. Липидный состав органов и тканей рыб, обитающих в условиях техногенного загрязнения. *Труды Зоологического института РАН*. 2016. № 320 (3). С. 280–293.
18. Вассер С. П., Кондратьева Н. В., Масюк Н. П. Водоросли. Справочник. *Наукова думка*, Киев. 1989. 608 с.
19. Вогнівенко Л. П., Євтушенко М. Ю., Шевряков М. В., Пентилюк С. І. Біохімія гідробіонтів. Херсон. *Олді-плюс*, 2009. 536 с.

20. Водяницький О. М., Потрохов О. С., Гриневич Н. Є. Зміна активності ферментів енергетичного обміну коропа за дії абіотичних чинників водного середовища. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2016. № 1. С. 10.

21. Водяницький О., Потрохов О., Зіньковський О., Причеп М. Зміна активності АТФ-ази в ембріонах коропових риб за дії різного температурного та кисневого режиму водойм. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2017. № 75. С. 14–22.

22. Войкова И. В., Конев Ю. Е. Микробиологическая очистка воды и почвы от нефти и нефтепродуктов. Сборник конференции «Интродукция микроорганизмов в окружающую среду», (17-19 мая. 1994., г. Москва). Москва, 1994. С. 12–13.

23. Габибов М. М., Рабаданова А. И., Курбанова И. К., Абдуллаева Н. М., Сулейманова У. З., Алиева Г. С. Влияние хронического воздействия ионов свинца и кадмия на содержание общего белка и его фракций в тканях сеголеток карпа (*Cyprinus carpio* L.). *Известия Самарского научного центра РАН*. 2009. № 1–5. С. 1066–1069.

24. Гайна К. М. Біологічна характеристика промислового стада сріблястого карася (*CARASSIS AURATUS GIBELIO* (BLOCH, 1782)) Дніпровсько-Бузької гирлової системи. *Рибогосподарська наука України*. 2017. № 3. С. 37–49.

25. Герасименко В. Л. Обзор методов определения глюкозы. Москва. *Наука*, 2005. 356 с

26. Глазунова И. А. Содержание и особенности распределения тяжелых металлов в органах и тканях рыб Верхней Оби. *Известия Алтайского государственного университета*. № 3. 2007. С. 20.

27. Говоркова Л. К. Выявление факторов накопления тяжелых металлов в органах рыб различных трофических групп (на примере Куйбышевского водохранилища).: Автореф. ... канд. биол. наук. Казань, 2004. 18 с.

28. Голованова И. Л., Филиппов А. А. Влияние антропогенных факторов на чувствительность пищеварительных карбогидраз рыб к действию

тяжелых металлов. Материалы III международной конференции с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (22–26 июня. 2010. г. Петрозаводск). Петрозаводск, 2010. 38 с.

29. Гончарова О. В., Параняк Р. П., Гутий Б. В. Функціональний стан організму прісноводних риб за умов впливу абіотичних чинників. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*. 2019. № 21 (90). С. 82–87.

30. Гончарова М. Т., Кіпніс Л. С., Коновець І. М., Незбрицька І. М., Яровий М. М. Оцінка якості води та донних відкладів каскаду озер Опечень (м. Київ) на основі токсикологічних та гідрохімічних досліджень. VIII З'їзд гідроекологічного товариства України, присвячений 110-річчю заснування Дніпровської біологічної станції. Перспективи гідроекологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів, 6-8 листопада 2019 р. : матер. Київ, 2019. С. 249–252.

31. Гончаренко Н. И. Проблемы сохранения биоразнообразия и некоторые аспекты массовой гибели рыб в природных водах. Материалы Международной конференции «Сохранение биоразнообразия бассейна Днестра» (7-9 окт., 1999, г. Кишинёв). Кишенёв, 1999. С. 50.

32. Горботюк Л. О., Ситник Ю. М., Платонов М. О., Каглян Н. М., Пасічна О. О., Савлучинська М. О. Кукля І. Г. Еколого-токсикологічні дослідження водойм в районі Бортницької станції аерації (м. Київ). Інтегроване управління водними ресурсами. Київ. 2014. 53–59 с.

33. Госькова О. А., Мельниченко И. П. Морфологические аномалии и травмы у четырех видов сиговых рыб в период нерестовой миграции вуральских притоках Оби. *Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство*. 2015 (сторінок нема) URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-anomalii-i-travmy-u-chetyreh-vidov-sigovyh-ryb-v-period-nerestovoy-migratsii-v-uralskih-pritokah-obi>

34. Грубінко В. В. Роль металів в адаптації гідро біонтів: еволюційно-екологічні аспекти. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* 2011. № 2 (47). С. 237–262.
35. Гулиев Р. А., Мелякина Э. И. Некоторые биохимические показатели крови рыб дельты Волги. *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство.* 2014. № 2. 85–86 с.
36. Даниленко, С. А., Лукьянова, О. Н. Биохимические маркёры адаптации у промысловых рыб эстуариев залива Петра Великого (Японское море). *Вопросы ихтиологии.* 2014. № 54 (1). С. 87–87.
37. Дементьев А. В. Использование молекулярных тестов в разведении животных. *Успехи современного естествознания.* 2003. № 5. С. 37–39.
38. Дерун А. Порівняльна характеристика деяких біохімічних показників тканин та органів плітки і карася Запорізького водосховища. Матеріали міжнарод. наук-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених. “Шевченківська весна”. Вип. V, ч. I. Київ, 2007. С. 23–24.
39. Дзюбук И. М., Клюкина Е. А. Морфофизиологический анализ ёрша (*Gymnoscephalus cernuus*(L)) района острова Раантасаари ладожского озера методами вариационной статистики. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского.* 2014, № 4 (1). 214 с.
40. Добрянська Г.М., Мельник А.П., Янович Н.Є., Янович Д.О. Особливості накопичення важких металів в організмі різних видів промислових риб. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З.Гжицького* 2013. Т.15 №1(55) частина 4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osoblivosti-nakopichennya-vazhkih-metaliv-v-organizmi-riznih-vidiv-promislovih-rib>
41. Долوماتов С. И., Жуков В. А., Актуальные проблемы исследования обменных процессов у рыб. *Current Issues of Research Exchange Processes in Fishes.* Radom, 2011. 80 с.
42. Дорохова И. Н. Особенности морфофизиологических и биохимических параметров печени морского ерша из бухт с различным уровнем загрязнения. Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Том I. Экологическая физиология и биохимия водных организмов.

сборник научных статей. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. С. 44–47.

43. Дребуадзе Ю. Ю. Экологические закономерности изменчивости роста рыб.: Автореф. ... док. биол. наук. Москва, 1998. 54 с.

44. Дудник С. В., Євтушенко М. Ю. Водна токсикологія: основні теоретичні положення та їхнє практичне застосування. Київ, 2013. 297 с.

45. Дудкін О.В., Єна А.В., Коржнев М.М. та ін. Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіттю України. К., 2003. 400 с.

46. Евтушенко Н. Ю., Сытник Ю. М. Содержание тяжелых металлов в рыбах водоема охладителя Ладыжинской ГРЭС. Всес. совещ. по рыбхоз. использ. тепл. вод. Москва, 1990. С. 237–238.

47. Жежеря В. А., Линник П. М., Зубенко І. Б. Уміст та форми знаходження металів у озерах системи Опечень (м. Київ). *Наукові праці УкрНДГМІ*. 2016. №269. С. 70–86.

48. Жиденко А. А. Гематологические показатели двухлеток карпа в условиях гербицидной загрузки. *Biosystems Diversity*. 2007. № 15. С. 38 – 44.

49. Жиденко А. А. Особенности пластического обмена карпа разного возраста под. действием гербицидов. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія*. 2008. № 16. Т. 3. С. 84–92.

50. Жуков Д. А. Биология поведения: гуморальные механизмы. Москва. 2007. 443 с.

51. Захарова Л. И. Определение активности глутаматдегидрогеназы в митохондриях тканей животных. *Методы биохимических исследований*. 1982. С. 250–252.

52. Земков Г. В., Журавлева Г. Ф. Кинетика патологических изменений при кумулятивном токсикозе в организме как критерий сопротивляемости популяции рыб. *Успехи современного естествознания*. 2004. № 1. С. 41–47.

53. Зубина Н. Ф., Сергеева В. Т., Кардакова М. В. Влияние нефтяного загрязнения на некоторые физиолого-биохимические особенности организма карпа. *Экол. физиология и биохимия рыб*. 1979. Т. 1. С. 82–93.

54. Іваненко Л. Д. Вплив іонів важких металів на здоров'я людини. *Педагогічна Житомищина*. 2005. № 5. С. 66–69.
55. Капанадзе Г. Д., Степанова О. И., Баранов О. В. Патологические изменения поджелудочной железы и печени рыб под действием аллоксана. *Биомедицина*. 2013. № 3 (1). 59–62 с.
56. Кириллов В. Н. Особенности липидного обмена в организме рыб в условиях повышенной минерализации воды. *Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство*. 2009. № 1. С. 132–133.
57. Клименко В. Г. Гідрологія України. Харків. 2010. 74–75.
58. Клименко О. М., Куновський Ю. В., Присяжнюк Н. М. Динаміка змін фізичних параметрів кровотворних органів коропа впродовж вегетаційного періоду. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2013. № 10 (105). С. 44–46.
59. Клопов М. И., Арепьев В. В., Першина О. В. Нейрогуморальная регуляция физиологических систем и обмена органических веществ у животных. Москва. 2012. 162 с.
60. Коваль В. О., Яковенко Б. В. Перетворення гліцину в організмі коропа при токсичному навантаженні важкими металами. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* 2011. № 2 (47). С. 193–197.
61. Корж О. П., Лебедева Н. И., Петриченко В. В. Використання засобів штучного дичерозведення для збереження біологічного різноманіття в умовах антропогенного перетворення ландшафтів. *Вісник Запорізького національного університету: Збірник наукових статей. Біологічні науки*. 2007. № 1 С. 100–106.
62. Коваленко Ю. О. Перспективи досліджень фізіолого-біохімічного стану популяцій коропових риб за тривалих змін навколишнього середовища в міських водоймах. *Біологічні дослідження – 2017: матеріали VIII Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю (Житомир, 14–16 березня 2017)*. Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, 2017. 121–123 с.
63. Коваленко Ю. О. Хронічний вплив дихромату калію на вміст кортизолу та глюкози у плазмі крові гірчака звичайного *RHODEUS SERICEUS*

(PALLAS, 1776). *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем*: матеріали IV Наук-прак. конф. молодих вчених (Київ, 6–7 листопада 2017) Київ, Інститут гідробіології НАН України, 2017. 33–34 с.

64. Коваленко Ю. О. Вплив алохтонного азоту на активність амінотрансфераз та лужної фосфатази плітки звичайної (*RUTILUS RUTILUS L.*) *Біологічні дослідження – 2018. Збірник наукових праць* (Житомир, 27 лютого 2018). Житоми, ЖДУ ім. І. Франка, 2018. 122–123 с.

65. Коваленко Ю. О. Вплив фенолу на активність ферментів азотного та фосфорного обміну амурського чебачка. *Актуальні питання сьогодення. Матеріали міжнар. наук-практ. конф.* (Вінниця, 20 березня 2018). Вінниця, Т.З. 12–15 с.

66. Коваленко Ю. О. Вплив фенолу на активність ферментів енергетичного та азотного обміну в м'язах молоді чебачка звичайного. *Водні екосистеми та збереження їх біорізноманіття. Матеріали I Всеукр. наук-практ. конф.* (Житомир, 11–12 квітні 2018). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, 19–22 с.

67. Коваленко Ю. О. Вплив забруднення водойм на зміни активності ферментів азотистого обміну в карася сріблястого та краснопірки звичайної. *Перспективи гідробіологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів. Мат. VIII з'їзду Гідроекологічного товариства України присвячений 110-річчю заснування Дніпровської біологічної станції* (Київ, 6–8 листопада 2019). Київ, 2019. С. 116–118.

68. Коваленко Ю. О. Зміна вмісту малонового діальдегіду та активності лужної фосфатази у тканинах карася сріблястого (*Carassius auratus* (Bloch, 1782)) за дії токсичного забруднення водойм. *Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів 2019 (Зоологічний кур'єр, № 13).* (13–14 листопада 2019). Київ, 2019. С. 13–14.

69. Коваленко Ю. О., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Фізіолого-біохімічні особливості реакції гірчака звичайного за хронічної дії дихромату

калію Наукові записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. 2018. Т. 74, № 3–4. С. 58–66.

70. Коваленко Ю. О., Примачев М. Т., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Деякі адаптивні реакції карася сріблястого (*CARASSIUS AURATUS GIBELIO* (BLOCH, 1782)) за надмірного навантаження амонійним азотом. *Рибогосподарська наука України*. 2018. Т. 44, № 2. С. 116–129.

71. Коваленко Ю. О., Шлапак О. О. Особливості фізіолого-біохімічних характеристик корошових видів риб в умовах водойм урбанізованих територій та різного складу паразитоценозів. *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем* Матеріали: V наук-прак конф. мол. вч. (Київ, 14–15 листопада 2018). Київ, С. 21–23.

72. Коваленко Ю. О., Шлапак О. О., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Вплив антропогенного забруднення на фізіолого-біохімічні показники риб та їх паразитоценозів. *Рибогосподарська наука України*. 2019. Т. 49, № 3. С. 72–88.

73. Комова Н. И. Вариабельность биохимических показателей некоторых карповых рыб в преднерестовый период. Материалы XXVIII международной конференции. П-дск. «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера». 2009. С. 292–296.

74. Коновалов Ю. Д. Рівень забруднення фенолами води Шацьких озер. Тези доп. конф. «Національні парки в системі екологічного моніторингу». Світязь, 1993. С. 14–16.

75. Кофонов К. Вплив підвищеного вмісту міогенів у воді на корошові види риб. *Біологічні дослідження – 2017*. С. 86–88.

76. Кравецкий П. А., Волкова И. В., Шипулин С. В. Влияние нефтяной интоксикации на гидролитическую функцию пищеварительного тракта карповых рыб. Материалы III международной конференции с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (22–26 июня. 2010, г. Петрозаводск.). Петрозаводск, 2010. С. 83 – 84 с.

77. Красюк Ю. М. Вміст аміаку і нітритів в тканинах риб за тривалої дії сполук неорганічного азоту. *Наук.записки Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* 2011. № 2. (47). С. 198–201.

78. Кривопиша В.В. Вплив стрес-факторів водного середовища на адаптивні функції нервової системи коропа. Автореф. Дис. ... канд.биол.наук. Чернігів, 2001. 20 С.

79. Кузьменко М. И., Брагинский Л. П., Ковальчук Т. В., Романенко А. В. Гидроэкологический русско-украинско-английский словарь-справочник. Киев, 1999. 262 с

80. Кузьмина С. С. Количественные и качественные изменения в крови сеголеток карпа при воздействии гербицида Пропазана. *Альманах современной науки и образования «Грамота»* 2010. № 5 (36). С. 76–78.

81. Курамшина Н. Г., Нуртдинова Э. Э., Назыров А. Д., Виноградов Г. Д., Матвеева А. Ю., Богатова О. В. Эколого-физиологическая характеристика рыб малых рек Южного Урала. *Вестник Оренбургского государственного университета.* 2015. № 4 (179). 240–243 с.

82. Курант В. З., Хоменчук В. О., Рабченко О. О., Далевська Д. Я., Ляврін Б. З. Метали як регулятори білкового обміну в організмі прісноводних ри́б.: матеріали Всеукраїнської науково- 13 практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-річчю заснування наукового фахового видання України «Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія Біологія» «ТЕРНОПІЛЬСЬКІ БІОЛОГІЧНІ ЧИТАННЯ – TERNOPIL BIOSCIENCE – 2017» (20–22 квітня. 2017, м. Тернопіль) Тернопіль, 2017. С. 132–135.

83. Кутикова Л. А., Старобогатов Я. И. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос). Гидрометеиздат. Л. 1977. 513.

84. Линник П. М., Жежеря В. А., Жежеря Т. П., Іванечко Я. С., Ігнатенко І. І. Гідрохімічний режим озер системи Опечень (м. Київ). *Наук. праці Укр. наук.-дослідного гідромет. ін-ту.* 2016. № 269. С. 59–69.

85. Лобойко Ю. В., Барило Б. С., Крушельницька О. В. Визначення активності амінотрансфераз у тканинах однорічок коропа за інвазії ектопаразитами. *Наук. вісник ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького*. 2017. № 79 (19). С. 17–21.
86. Локтионова Е. Г., Болонина Г. В., Яковлева Л. В. Мониторинг загрязнения фенолами, нефтепродуктами и синтетическими поверхностно-активными веществами внутренних водоемов г. Астрахани. *Вестник ОГУ*. 2012. № 6 (142). С. 112–116.
87. Лукьяненко В. И. Общая ихтиотоксикология. Москва, 1983. 320 с.
88. Магомедгаджиева Д. Н. Токсическое воздействие среды на некоторые показатели липидного обмена и системы антиоксидантной защиты рыб. Автореф. Дис. ... канд. биол. наук. Махачкала, 2002. 20 С.
89. Майстренко М. И., Драган Л. П., Рудь Ю. П. Влияние IPNV на активность аспаратаминотрансферазы в перевиваемой культуре клеток рыб. *Сельскохозяйственный журнал*. 2014. №7. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ipnv-na-aktivnost-aspartataminotransferazy-v-perevivaemoy-kulture-kletok-ryb>
90. Маляревская А. Я., Биргер Т. И., Соломатина В. Д., Гутало Ю. М. Аминокислотный состав и трансаминазная активность в тканях рыб, содержащихся в среде с синезелеными водорослями. *Украинский биохимический журнал*. 1978. № 50 (6). С. 718–722.
91. Маньора Г. Б., Грубінко В. В. Адаптивні перебудови жирнокислотного складу мозку риб за умов дії свинцю. *Доповіді НАН України*. 2003. № 11. С. 167–70.
92. Марценюк В. М. Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників.: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Київ, 2019. 20 с.
93. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Адаптивна біохімічна відповідь коропа та окуня на дію підвищеного температурного режиму води. *Наук. записки Терноп. нац. пед. ун-ту. ім. В. Гнатюка. Сер. Біол.* 2017. № 1 (68). С. 83–89.

94. Марченко Н. Л. Тяжелые металлы в массовых видах рыб из водоемов южного Приморья.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2007. 20 с.

95. Матвеева А. Ю., Богатова О. В. Эколого-физиологическая характеристика рыб малых рек Южного Урала. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2015. № 4 (179). 240–243 с.

96. Медовник Д. В., Причепа М. В. Особливості метаболічної адаптації представників аборигенних та інвазивних видів у малих річках урбанізованих територій. Збірник матеріалів IV науково-практичної конференції для молодих вчених присвяченій 100-річчю Національної академії наук України «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем». Київ, 2017. С. 41–43.

97. Мецлер. Д Биохимия. Химические реакции в живой клетке Том 3. 1980. Москва С. 96 – 101.

98. Микряков В. Р., Балабанова Л. В., Заботкина Е. А., Лапирова Т. Б., Попов А. В., Силкина Н. И. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. Федеральное государственное унитарное предприятие Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр Наука. 2001. 126 с.

99. Миронюк М. О. Особливості метаболічних адаптацій риb до нафтового забруднення водного середовища.: автореф. дис. ... канд. біол. Наук. Київ, 2009. С. 17.

100. Мрук А. І., Тертерян Л. А., Тертерян Л. Л. Характеристика райдужної форелі породи «Адлерівська янтарна» в умовах індустріального господарства «Іштан». *Рибогосподарська наука України*. 2010. № 3. с. 20–24.

101. Мусаев Б. С., Мурадова Г. Р., Рабаданова А. И. Влияние ионов кадмия и свинца на некоторые показатели липидного обмена и систем антиоксидантной защиты сеголеток карпа (*Cyprinus Carpio* L.). *Экология животных. Юг России: экология, развитие*. 2009. № 1. С. 44–54.

102. Мусаев Б. С., Курбанова И. К., Магомедгаджиева Д. Н., Мурадова Г. Р., Рабаданова А. И., Маржиева А. З., Шихмагомедова Р. М. Динамика активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в крови сеголеток карпа при хроническом воздействии ионов кадмия и марганца. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2010. № 12 (1–5). С. 1321–1324.
103. Мсаев Б. С., Курбанова И. К., Магомеджанова Д. Н. Динамика активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в крови сеголеток карпа при хроническом воздействии ионов кадмия и марганца. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2010. № 1. С. 1321–1324.
104. Немова Н. Н. Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. Москва, 2004. С. 215.
105. Немова Н. Н., Мещерякова О. В., Лысенко Л. А., Фокина Н. Н. Оценка состояния водных организмов по биохимическому статусу. Труды Карельского научного центра РАН. 2014. № 5. С. 18–29.
106. Новіцький Р. О., Слинько Ю. В. Масштаби та спрямованість інвазій чужорідних видів риб у найбільші ріки Європи. *Питання біоіндикації та екології*. 2010. Вип. 14. № 2. С. 150–163.
107. Особа А. І. Концентрація білка та співвідношення окремих білкових фракцій у сироватці крові дволіток коропів несвицького зонального типу. *Рибогосподарська наука України*. 2011. № 1. С. 107–110.
108. 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 (20). С. 63–69.
109. Панкратова Ю. В., Пржиялковская Е. Г., Пигарова Е. А., Дзеранова Л. К. Фермент сукцинатдегидрогеназа (SDH) и его роль при наследственных аденомах гипофиза. *Ожирение и метаболизм*. 2013. № 4 (37). С. 11–13.
110. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. Москва, 1966. 376 с.

111. Присяжнюк Н. М., Слободенюк О. І., Гриневич Н. Є., Бабень В. П., Кузьменко О. А., Горчанок А. В. Аборигенні види риб як тест-об'єкти для досліджень сучасного стану гідроекосистем. *Агроекологічний журнал*. 2019. № 1. С. 97–102.
112. Причепа М. В. Вплив антропогенного забруднення водойм на морфо-фізіологічні та біохімічні показники окуня (*PERCA FLUVIATILIS LINNAEUS*, 1758) в різні сезони року. *Рибогосподарська наука України*. 2019. № 2 (48). С. 52–66.
113. Причепа М. В. Активність лактатдегідрогенази та загальної АТФ-ази як показник екологічної пластичності окуневих риб за умов погіршення кисневого режиму. Мат. міжн. науково-практ. дистанційної конф «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем.». 2014. С. 142–145.
114. Причепа М. В., Медовник Д. В. Сучасний стан іхтіофауни озера Кирилівське. *Біологічні дослідження–2017*. 2017. С. 97–100.
115. Причепа М. В., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Метаболічні стрес-реакції в окуня *perca fluviatilis* L. та йоржа *gymnocephalus cernua* L. за дії фенолу та біхромату калію. *Наук. Зап. Терноп. нац. Пед. Ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія : Біологія*. 2014. № 1 (58). С. 44–50.
116. Пронина Г. И., Ревякин А. О., Корягина Н. Ю., Патологические изменения поджелудочной железы и печени рыб под действием аллоксана. *Биомедицина*. 2013. Том 1, № 3. 59 с.
117. Попова Е. М., Кощій І. В. Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу. *Рибогосподарська наука України*. 2007. № 1. С. 49–56.
118. Потрохов О. С. Фізіолого-біохімічні механізми адаптації риб до змін екологічних чинників водного середовища.: автореф. дис. ... докт. біол. наук. Київ, 2011. 44 с.
119. Потрохов О. С., Зінковський О. Г., Могілевич Н. О. Сезонні зміни загальних біохімічних показників коропів під впливом сполук алохтонного азоту. *Рибогосподарська наука України*. 2010. № 2. С. 72–79.

120. Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Особливості пристосування риб до зміни температури і мінералізації води за показниками вмісту трийодтироніну, кортизолу і глюкози у плазмі крові. *Наук. Зап. Терноп. нац. Пед. Ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія : Біологія*. 2017. № 1. С. 89–95
121. Примачев М. Т. Комплексное влияние паразитов и загрязнения воды на морфо-физиологические показатели рыб. II Міжнар. наук.-практ. конф.: тези доп. Дніпро «Проблеми функціонування та підвищення продуктивності водних екосистем»: Дніпро, 2017. С. 34–35.
122. Прокопук М. С., Погорелова Ю. В. Вміст біогенних речовин у водоймах міста Києва. *Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія*. 2016. № 3 (42). С. 76–84.
123. Пронина Г. И., Ревякин А. О., Корягина Н. Ю., Иванов А. А., Золотова А. В., Капанадзе Г. Д., Степанова О. И., Баранов О. В. Патологические изменения поджелудочной железы и печени рыб под действием аллоксана. *Биомедицина. Выпуск*. 2013. № 3 (1 / 201) 59–62 с.
124. Пронина Г. И., Петрушин А. Б. Адаптация двухлетков карпа к неполному голоданию. Материалы 2-й всероссийской научно-практической конференции (22-24 июня 2010, г. Волгоград) Волгоград, 2010. С. 134–138.
125. Пурмаль А. П. Антропогенная токсикация планеты. *Сорос. образ. журн. Химия*. 1998. № 9. С. 39–51.
126. Онисковець М. Я., Снітинський В. В. Вплив свинцю на активність ферментів антиоксидантного захисту та процеси перекисного окиснення ліпідів в еритроцитах крові коропа лускатого. *Біологія тварин*. 2013. № 2 (15). С. 107–112.
127. Орлов Д. С., Садовникова Л. К., Лазановская И. Н. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении. Москва, 2002. 334 с.
128. Осадчая Л. М. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. 272 с.
129. Остроумов С. А. Загрязнение, самоочищение и восстановление водных экосистем. Москва, 2005. С. 63–89.

130. Рыжков Л. П. Селезенка – морфофизиологический индикатор качества состояния популяции рыб. *Экологическая физиология водных организмов*. Петрозаводск, 1992. С. 11–17.
131. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск, 1973. 320 с.
132. Романова Е. М., Игнаткин Д. С., Романов В. В. Биологический контроль окружающей среды в зонах повышенной антропогенной загрузки. *УГСХА*. 2015. 240 с.
133. Романенко О. В., Арсан О. М., Кіпніс Л. С., Ситник Ю. М. Екологічні проблеми Київських водойм і прилеглих територій. Київ, 2015. 189 с.
134. Рощина О. В. Применение сывороточных аминотрансфераз рыб для оценки экологического состояния акваторий. Мат. междунар. науч. конф. «Современные проблемы гидробиологии. Перспективы, пути и методы решений» Херсон, 2008. С. 374–378.
135. Руднева И. Н. Применение биомаркеров рыб для экологической диагностики водной среды. *Рибогосподарська наука України*. 2006. № 1. С. 20–23.
136. Руднева И. И., Залевская И. Н., Омельченко С. О. Сезонная динамика уровня микробного загрязнения прибрежных видов черноморских рыб. *Ветеринарна медицина*. 2008. № 90. С. 357–363.
137. Руднева И. И., Кузьминова Н. С. Изменение биомаркеров гонад некоторых видов черноморских рыб, обитающих в условиях хронического загрязнения. *Экологические системы и приборы*. 2011. № 2. С. 8–12.
138. Лаврін Е. З., Бияк В. Я., Хоменчук В. О., Курант В. З. Фосфоліпідний склад печінки та зябер рыб як індикатор екологічного стану поверхневих вод річок Тернопільщини. *Біологія тварин*. 2014. № 16 (2). С. 56–65.
139. Лобойко Ю. В., Барило Б. С., Крушельницька О. В. Визначення активності аминотрансфераз у тканинах однорічок коропа за інвазії ектопаразитами. *Наук. вісник ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького*. 2017. № 19 (79). С. 17–21.

140. Силкина Н. И., Микряков В. Р. Влияние сублетальных концентраций ионов кадмия на некоторые показатели липидного обмена рыб. Материалы третьей научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии Ярославской области». 2005. № 1(3). С. 284–288.
141. Суржко Л. Ф., Финкельштейн З. И., Баскунов Б. П., Янкевич М. И., Яковлев В. И., Головлева Л. А. Утилизация нефти в почве и воде микробными клетками. *Микробиология*. 1995. № 3. С. 393 – 398.
142. Симон М. Ю. Особливості травлення осетрових видів риб (Acipenseridae) (огляд). *Рибогосподарська наука України*. 2016. № 3. С. 123–144.
143. Сисолятин С. В. Ліпідний склад тканин лускатого коропа (CYPRINUS CARPIO L.) за умов штучного вуглекисневого гіпобіозу. *Рибогосподарська наука України* 2016. № 3. С. 111–122.
144. Ситник Ю. М. Вміст важких металів в організмі деяких видів риб ріки Інгулець. Матеріали V Міжнародної наукової конференції «Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах». Дніпропетровськ, 2009. С. 124–127.
145. Ситник Ю. М. Вміст важких металів в органах і тканинах риби деяких ставів річки Нивка (Київ). *Рибогосподарська наука України*. 2012. № 2. С. 106–110.
146. Ситник Ю. М., Арсан О. М., Засєкін Д. А. Вміст та розподіл важких металів в органах і тканинах риби – основа технологічної карти для виготовлення екологічно чистої рибної продукції. *Аграрна наука і освіта*. № 8 (5–6). 2007. С. 55–57.
147. Ситник Ю. М., Арсан О. М., Киричук Г. Є, Ляшенко А. В. Вміст іонів важких металів у органах та тканинах молюсків деяких водойм міської зони Києва. *Наук. зап. Терноп. Нац. пед. у-ту ім. В. Гнатюка. Серія :Біологія*. 2012. № 2 (51). С. 230–236.
148. Ситник Ю. М., Калиновська А. В. Важкі метали в органах і тканинах риби озера Синє (масив Виноградар, Київ). Матеріали IV Міжнародної наукової конференції «Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах». Дніпропетровськ, 2007. С. 166–169.

149. Ситник Ю., Осадча Н., Шевченко П., Забитівський Ю. Еколого-токсикологічна оцінка спрямованості гідрохімічних процесів в озері Пісочне Шадського парку. *Вісник Львів. УН-ТУ Серія біологічна*. 2009. № 50. С. 59–66.
150. Сыромятникова С. И., Колмыков С. И., Корнилов А. Г. Азотистое загрязнение объектов Белгородской области в сельскохозяйственных и горнопромышленный районах. *Научные ведомости. Серия Естественные науки*. 2012. №15 (134) вып. 20. С. 173–177.
151. Сычева Е. В. К вопросу о критериях оценки экологического риска воздействия фенолов на водные экосистемы (на примере бухты Радуга). *Инновационные технологии*. 2014. С. 80–83.
152. Сондак В. В. Особливості формування стресових ситуацій та ризику виживання аборигенної іхтіофауни в поверхневих водах України. *Доп. НАН України*. 2008. № 7. 198 с.
153. Стадніченко А. П., Янович Л. Н., Васильева Л. А., Павлюченко О. В., Тарасова Ю. В., Гарлінська А. М., Єрмошина Т. В. Сучасний стан малої біоти річок, озер, водосховищ України. Інтегроване управління водними ресурсами. 2014. 167–171 с.
154. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биологии*. Методика. 1977. С. 66–68.
155. Степанова Е. В., Игнатов В. В. Влияние ионов кадмия на активность аминотрансфераз у потомства самок белых крыс. *Изв. Сарат. Ун-та Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2007. № 1. С. 56 – 59.
156. Столбунов И. А. Внутривидовая морфологическая изменчивость пресноводных рыб умеренных и тропических широт. *Вісник Дніпропетровського ун-ту. Серія Біологія. Екологія*. 2009. № 17 (2) С. 97–100.
157. Трахтенберг И. М., Шестопапов В. М., Набока М. В. Бобылева О. А. Свинец и другие тяжелые металлы во внешней среде после Чернобыльской катастрофы. *Международ. мед. журнал*. 1998. № 3. С. 94–98.
158. Уголев А. М., Кузьмина В. В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. Санктпетербург, 1993. 238 с.

159. Федорко Н. Л., Захариєва З. Е., Вовчук І. Л., Основные свойства и методы выделения оксиредуктаз. Методические указания для выполнения экспериментальных исследований по большому специальному практикуму часть 2. Одесса, 2012. 39 с.
160. Федоров Е. Ф. Эколого-морфологическая характеристика ихтиофауны реки Ишым на юге Тюменской области. *Вестник Тюменского гос. ун-та*. 2011. № 6. 70–77 с.
161. Фоменко М. В. Сучасна екологічна ситуація в м. Івано-Франківську та система забезпечення екологічної безпеки міської території. Автореф. дис. ... канд. геогр. наук. Івано-Франківськ, 2006. 20 с.
162. Фролов Б. А. К вопросу о приспособлении гидробионтов к токсическому фактору. *Гідробиологічний журнал*. 1971. Т. 7. № 6. С. 61–66.
163. Фунг Н. Д., Распопов В. М., Сергеева Ю. В. Морфобиологическая характеристика заводской молоди осетра для формирования запасов. *Вестник АГТУ.: Рыбное хозяйство*. 2013. № 2. С. 191–196.
164. Хлебович В. В. Адаптации особи и клона: механизмы и роли в эволюции. *Русский орнитологический журнал* 2014. № 23 (1037). С. 2557–2558.
165. Хоменчук В. А., Симчук С. Р., Миронюк М. А., Курант В. З. Особенности распределения ионов цинка в организме карася (*Carassius carassius* L.). Материалы III международной конференции с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (22–26 июня 2010. г. Петрозаводск). Петрозаводск, 2010. 189–202 с.
166. Худіяш Ю. М., Причєпа М. В., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г., Горбатюк Л. О., Коваленко Ю. О., Медовник Д. В. Вплив екологічних умов озер м. Києва на стан іхтіофауни. *Рибогосподарська наука України*. 2020. Т. 51. № 1. 28–43.
167. Чайковська Г. Б. Роль ліпідів в адаптації мозку риб до дії важких металів.: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Чернівці, 2005. 20 с.
168. Червона книга України: Тваринний світ. – К. УЕ, 1996. 608 с

169. Шлапак О. О., Коваленок Ю. О. Вплив забруднення водойм сполуками неорганічного азоту на фізіолого-біохімічні показники паразитоценозу карася сріблястого (*CARASSIUS AURATUS GIBELIO* (BLOCH, 1782)) *Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів*. Матеріали: міжнар. наук-прак. конф. (Київ, 15–17 травня 2018). Київ, 2018. С. 45–47.
170. Щербак В. И., Семенюк Н. Е. Разнообразие фитопланктона некоторых водоемов г. Киева. *Альгология*. 2006. № 16. (4). С. 467–478.
171. Яржомбек А. А., Лиманский В. В., Щербина Т. В. Справочник по физиологии рыб. Москва, 1986. 192 с.
172. Agalakova N. I., Brailovskaya I. V., Konovalova S. A., Korotkov S. M., Lavrova E. A., Nikiforov A. A. ATP-consuming processes in hepatocytes of river lamprey *Lampetra fluviatilis* on the course of prespawning starvation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2016. № 201. P. 95–100.
173. Ali A. O., Hohn C., Allen P. J., Ford L., Dail M. B., Pruett S., Petrie-Hanson L. The effects of oil exposure on peripheral blood leukocytes and splenic melano-macrophage centers of Gulf of Mexico fishes. *Marine Pollution Bulletin*. 2014. № 79 (1-2). P. 87–93.
174. Altinok I., Capkin E., Karsi A. Succinate dehydrogenase mutant of *Listonella anguillarum* protects rainbow trout against vibriosis. *Vaccine*. 2015. № 42. P. 5572–5577.
175. Amal S. M., Nahed S. G. Mohamed A. El Desoky Liver enzyme activity of *Tilapia zillii* and capito Collected seasonally from Qarun lake, Egypt. *Fisheries and Aquaculture j.* 2019. № 10 (1). P. 2150–3508.
176. Lindesjö E., Adolfsson-Erici M., Ericson G., Förlin L. Biomarker responses and resin acids in fish chronically exposed to effluents from a total chlorine-free pulp mill during regular production. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2002. № 53 (2). P. 238–247.

177. Anil kumar V., Janaiah C., Venkateshwarlu P. Thiamethoxam (Organochloride *Channa punctatus* (Bloch). *International cuarterly journal of life sciences*, 2010. № 5 (1). P. 135–137.
178. Antonietta Ciardiello M. A, Camardella L., Carratore V., Guido di Priso L-Glutamate dehydrogenase from the Antarctic fish *Chaenocephalus aceratus* Primary structure, funcion and thermodynamic characterisation: relationship with cold adaptation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000. № 1543. P. 11– 23.
179. Arinç E., Yilmaz D., Bozcaarmutlu A. Mechanism of Inhibition of CYP1A1 and Glutathione S-Transferase Activities in Fish Liver by Quercetin, Resveratrol, Naringenin, Hesperidin, and Rutin. *Nutrition and Cancer*. 2014. № 67(1). P. 137–144.
180. Aslam S., Yousafzai A. M. Chromium toxicity in fish: A review article. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 2017. № 5 (3). 1483–1488.
181. Balaji G, Nachiyappan M., Venugopal R. Sub-Lethal Effect of Cypermethrin on Ca, Mg and Na /K-ATPase Activity in Fresh Water Teleost, *Cyprinus carpio*. *World Journal of Zoology*. 2015. № 10 (3): P. 168–174.
182. Bar N. Physiological and hormonal changes during prolonged starvation in fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2014. № 71 (10). P. 1447–1458.
183. Bates J. M., Akerlund J., Mittge E., Guillemin K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. *Cell Host & Microbe*. 2007. № 2. P. 371–382.
184. Bates J. M, Mittge E, Kuhlman J, Baden K. N., Cheesman S. E., Guillemin K Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. *Developmental Biology*. 2006. № 297. P. 374–386.
185. Banaee M., Sureda A., Zohiery F. Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin. *Int. J. Aquat. Biol*. 2014. № 2 (2). P. 58–68.
186. Ballesteros M. L., Rivetti N. G., Morillo D. O., Bertrand L., Amé M. V., Bistoni M. A. Multi-biomarker responses in fish (*Jenynsia multidentata*) to assess

the impact of pollution in rivers with mixtures of environmental contaminants.

Science of The Total Environment. 2017. № 595. P. 711–722.

187. Begum G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response. *Aquatic Toxicology*. 2004. № 66 (1). P. 83–92.

188. Boge G., N'Diaye P., Roche H., Peres G. Effects of hexavalent chromium at non-lethal concentrations on the enzymology of the intestine of *Salmo gairdneri* and *Dicentrarchus labrax* (Pisces). *Journal de physiologie*. 1988. № 83 (2). P. 57–63.

189. Boesch D. F. Dennison W., Houde K., Kemp M., Kennedy V., Newell R., Paynter A., Orth R., Ulanowicz R. Factors in the decline of coastal ecosystems. Factors in the decline of coastal ecosystems. *Science*. 2001. № 293 (5535). P. 1589–1591.

190. Bondy P. K., Upton G. V., Pickford G E. Demonstration of Cortisol in Fish Blood. *Nature*. 1957. № 179 (4574). P. 1354–1355.

191. Botros M., Sikaris K. A. The de ritis ratio: the test of time. *Clin. Biochem. Rev*. 2013. № 34. P. 117–130.

192. Bouraoui F., Grizzetti B. Modelling mitigation options to reduce diffuse nitrogen water pollution from agriculture. *Science of The Total Environment*. 2014. № 468-469. P. 1267–1277.

193. Bresolin de Souza K., Jutfelt F., Kling P., Förlin L., Sturve J. Effects of Increased CO₂ on Fish Gill and Plasma Proteome. *PLoS ONE*. 2014. № 9 (7). P. 1–9. doi:10.1371. journal.pone.0102901

194. Brown C. L., Urbinati E. C., Zhang W., Brown S. B., McComb-Kobza M. Maternal Thyroid and Glucocorticoid Hormone Interactions in Larval Fish Development, and Their Applications in Aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 2014. № 22 (3). P. 207–220.

195. Castillo L. V., Lim J. M. The influence of untreated wastewater to aquatic communities in the Balatuin River, The Philippines. *Chemosphere*. 2003. № 52 (1). P. 43–53.

196. Camargo J. A., Alonso A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas*. 2007. № 16 (2). P. 98–99.
197. Cappello T., Brandão F., Guilherme S., Santos M. A., Maisano M., Mauceri A., Pereira P. Insights into the mechanisms underlying mercury-induced oxidative stress in gills of wild fish (*Liza aurata*) combining ¹H NMR metabolomics and conventional biochemical assays. *Science of The Total Environment*. 2016. P. 548–549.
198. Carney A. B., Asker N., Wassmur B., Rosengren M., Jutfelt F., Gräns A., Sturve J. Warmer water temperature results in oxidative damage in an Antarctic fish, the bald notothen. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 2015. № 468. P. 130–137.
199. Cazenave J., Bacchetta C., Rossi A., Ale A., Campana M., Parma M. J. Deleterious effects of wastewater on the health status of fish: A field caging study. *Ecological Indicators*. 2014. № 38. P. 104–112.
200. Cai Z., Li W., Mai K., Xu W., Zhang Y., Ai Q. Effects of dietary size-fractionated fish hydrolysates on growth, activities of digestive enzymes and aminotransferases and expression of some protein metabolism related genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. *Aquaculture*. 2015. № 440. P. 40–47.
201. Chandravathy V. M., Reddy S. L. N. Lead nitrate exposure changes in carbohydrate metabolism of freshwater fish. *J. Environ. Biol.* 1991. № 17 (1). P. 75–79.
202. Chew S. F., Ip Y. K. Excretory nitrogen metabolism and defence against ammonia toxicity in air-breathing fishes. *Journal of Fish Biology*. 2014. № 84 (3). P. 603–638.
203. Chitra K. C., Sajitha R. Effect of bisphenol-a on the antioxidant defense system and its impact on the activity of succinate dehydrogenase in the gill of freshwater fish, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Cell & Tissue Research*. 2014. № 14 (2). P. 4219–4226.
204. Choi C. Y., An K. W. Cloning and expression of Na⁺/K⁺-ATPase and osmotic stress transcription factor 1 mRNA in black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*

during osmotic stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2008. № 49 (1). P. 91–100.

205. Chupani L., Zusková E., Niksirat H., Panáček A., Lünsmann V., Haange S. B., Jehmlich N. Effects of chronic dietary exposure of zinc oxide nanoparticles on the serum protein profile of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Science of The Total Environment*. 2017. № 579. P. 1504–1511.

206. Ciardiello M. A., Camardella L., Carratore V., di Prisco G. Enzymes in Antarctic fish: Glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 1997. № 118 (4). P. 1031–1036.

207. Collard F., Gilbert B., Eppe G., Parmentier E., Das K. Detection of Anthropogenic Particles in Fish Stomachs: An Isolation Method Adapted to Identification by Raman Spectroscopy. *Archives of Environmental Contamination and Toxicolog.* 2015. № 69 (3). P. 331–339.

208. Conde-Sieira M., Soengas J. L. Nutrient Sensing Systems in Fish: Impact on Food Intake Regulation and Energy Homeostasis. *Frontiers in Neuroscience*. № 10. doi.org/10.3389/fnins.2016.00603

209. Cooper E. L. Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. *Annual Review of Fish Diseases*. 1993. № 3. P. 347.

210. Contreras-Zentella M. L., Hernández-Muñoz R. Is liver enzyme release really associated with cell necrosis induced by oxidant stress? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3529149>

211. Cuscov M., Muller F. L. L. Differentiating humic and algal surface active substances in coastal waters by their pH-dependent adsorption behaviour. *Marine Chemistry*. 2015. № 174. P. 35–45.

212. Cyr N. E., Romero L. M. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2009. № 161. P. 295–303.

213. Dai W., Panserat S., Terrier F., Seiliez I., Skiba-Cassy S. Acute rapamycin treatment improved glucose tolerance through inhibition of hepatic gluconeogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *American Journal of*

Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2014. № 307 (10). P. 1231–1238.

214. De la Torre F. R., Salibián A., Ferrari L. Assessment of the pollution impact on biomarkers of effect of a freshwater fish. *Chemosphere*. 2007. № 68 (8). P. 1582–1590.

215. De la Torre F. R., Salibin A., Ferrari L. Enzyme activities as biomarkers of freshwater pollution: Responses of fish branchial (Na⁺K)-ATPase and liver transaminases. *Environmental Toxicology*. 1999. № 14 (3). P. 313–319.

216. Devi M. S., Gupta A. Sublethal toxicity of commercial formulations of deltamethrin and permethrin on selected biochemical constituents and enzyme activities in liver and muscle tissues of *Anabas testudineus*. *Pesticide biochemistry and physiology*. 2014. № 115. P. 48–52.

217. Dolomatov S. I., Kubyshkin A. V., Zukow W. A., Kutya S. A., Cieslicka M., Muszkieta R., Napierala M. Prospects for the replenishment of a feed protein deficit in aquaculture. *Russian Journal of Marine Biology*. 2014. № 40 (4). P. 233–240.

218. Duan Y., Li F., Li Y., Tang Y., Kong X., Feng Z., Yin Y. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino acids*. 2016. № 48 (1). P. 41–51.

219. Dyer S. D., Peng C., McAvoy D. C., Fendinger N. J., Masscheleyn P., Castillo L. V., Lim J. M. The influence of untreated wastewater to aquatic communities in the Balatun River, The Philippines. *Chemosphere*. 2003. № 52 (1) P. 43–53.

220. Fang L., Liang X.-F., Zhou Y., Guo X.-Z., He Y., Yi T.-L., Tao Y.-X. Programming effects of high-carbohydrate feeding of larvae on adult glucose metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. *British Journal of Nutrition*. 2013. № 111 (05). P. 808–818.

221. Fatima S., Izhar¹ S., Usman Z., Rashidi F., Kanwal¹ Z., Jabeen G., Latif¹ A. A. Effects of High Stocking Density on Condition Factor and Profile of Free Thyroxine and Cortisol in *Catla catla* (Hamilton, 1822) and *Labeo rohita*

(Hamilton, 1822). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2018. № 18 (1). P. 217–221.

222. Firat O, Cogun H. Y, Yüzereroglu T. A., Gök G., Firat Ö., Kargin F., Kötemen Y. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish. Physiol. Biochem.* № 37. P. 657–666.

223. Fiske C. H., Subbarow Y. J. The colorimetric estimation of phosphorous. *Biol. Chem.* 1925. № 66. P. 375.

224. Frumkin H., Gerberding J. L. Toxicological profile for phenol. *United States Department of Health And Human Services*. 2008. 221 p.

225. García-López M. de L., Salguero-Vargas G., García-Prieto L., Osorio-Sarabia D., Pérez-Ponce de León G. Endohelminths of some species of fishes from Lake Xochimilco, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. № 87 (4). P. 1360–1364.

226. Geven E. J., Klaren P. H. M. The teleost head kidney: Integrating thyroid and immune signalling // *Developmental and Comparative Immunology*. 2017. № 66. P. 73–83.

227. Guido Van den Thillart. Carbohydrate metabolism of goldfish (*Carassius auratus L.*). *Journal of Comp. Physiol. B*. 1984. № 154 (5). P. 477–486.

228. Gupta S. K., Pal A. K., Sahu N. P., Saharan N., Mandal S. C., Prakash C. Prusty A. K. Dietary microbial levan ameliorates stress and augments immunity in *Cyprinus carpio* fry (Linnaeus, 1758) exposed to sublethal toxicity of fipronil. *Aquaculture Research*. 2012. № 45 (5). P. 893–906.

229. Guptha J. S., Renuka M., Suneetha Y., Reddy M. S. Evaluation of antioxidant defence system during xenobiotic induced oxidative stress in freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *Int J Fish Aquat Stud*. 2016. № 4. P. 379–385.

230. Guiloski I. C., Ribas J. L. C., Pereira L. da S., Neves A. P. P., Silva de Assis, H. C. Effects of trophic exposure to dexamethasone and diclofenac in freshwater fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015. № 114. P. 204–211.

231. Gorman M. W., Zimmer K. D., Herwig B. R., Hanson M. A., Wright R. G., Vaughn S. R., Younk J. A. Relative importance of phosphorus, fish

biomass, and watershed land use as drivers of phytoplankton abundance in shallow lakes. *Science of The Total Environment*. 2014. № 466. P. 849–855.

232. Ismail H. T. H., Mahboub H. H. H. Effect of acute exposure to nonylphenol on biochemical, hormonal, and hematological parameters and muscle tissues residues of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. *Veterinary world*. 2016. № 9 (6). P. 616–625.

233. Hayes F. R. On the Variation in Bottom Fauna and Fish Yield in Relation to Trophic Level and Lake Dimensions. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 1957. № 14 (1). P. 1–32.

234. He A.-Y., Ning L.-J., Chen L.-Q., Chen Y.-L., Xing Q., Li J.-M., Du Z.-Y. Systemic adaptation of lipid metabolism in response to low- and high-fat diet in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Physiological Reports*. 2015. № 3 (8), e12485. doi.org/10.14814/phy2.12485

235. Herrera M., Ruiz-Jarabo I., Vargas-Chacoff L., de la Roca E., Mancera J. M. Metabolic enzyme activities in relation to crowding stress in the wedge sole (*Dicologlossa cuneata*). *Aquaculture Research*. 2014. № 46 (11). P. 2808–2818.

236. Hori T. S. F., Avilez I. M., Inoue L. K., Moraes G. Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrinxã *Brycon cephalus* (teleostei: characidae) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2006. № 143 (1). P. 67–72.

237. Htun-Han M. The reproductive biology of the dab *Limanda limanda* (L.) in the North Sea : gonosomatic index, hepatosomatic index and condition factor. *Fish boil*. 1978. № 13 (3). P. 369–378.

238. Inyang I. R., Akio K., Izan S. Ch. Effect of dimethoate on lactate dehydrogenase, creatinine kinase and amylase in *Clarias lazera*. *Biotechnological research*. 2016. № 2 (4). P. 155–160.

239. Islam M. S., Tanaka M. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin*. 2004. № 48 (7–8). P. 624–649.

240. Javed M., Usmani N., Ahmad I., Ahmad M. Studies on the oxidative stress and gill histopathology in *Channa punctatus* of the canal receiving heavy metal-loaded effluent of Kasimpur Thermal Power Plant. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2014. № 187 (1). P. 1–11.
241. Javed M., Usmani N. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2015. № 22 (2). P. 237–242.
242. Jensen F. B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2003. № 135 (1). P. 9–24.
243. Jin J., Médale F., Kamalam B. S., Aguirre P., Véron V., Panserat S. Comparison of Glucose and Lipid Metabolic Gene Expressions between Fat and Lean Lines of Rainbow Trout after a Glucose Load. *PLoS ONE*. 2014. № 9 (8). e105548. 10.1371/journal.pone.0105548
244. Johnston I. A., Walesby N. J. Molecular mechanisms of temperature adaptation in fish myofibrillar adenosine triphosphatases. *Journal of comparative physiology*. 1977. № 119 (2). P. 195–206.
245. Jose A. Munoz'Cuerto, Jos A. Paullada'Salmaron, Maria Aliaga'Guerrero, Mairi E Cowan, Ishwar S Parhar, Takayoshi Ubuka A journey through the gonadotropin'inhibitory hormone system of fish. *Frontiers in endocrinology*. 2017. № 8. 285 p. doi.org/10.3389/fendo.2017.00285
246. Kang A. Protection and management of urban lakes in India. *Centre for Science and Environment*, New Delhi. 2013. 14 p.
247. Kaviraj A., Gupta A. Biomarkers of type II synthetic pyrethroid pesticides in freshwater fish. *BioMed research international*. 2014. doi.org/10.1155/2014/928063
248. Kennish M. J. Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*. 2002. № 29 (1). P. 78–107.
249. Khalid Abdullah Al-Ghanim Effect of a Synthetic Pyrethyroid, Cypermethrin, on Aminotransferases and Glutamate Dehydrogenase Activities in

Gill, Liver and Muscles of a Freshwater Fish, *Cyprinus carpio*. *Pakistan J. Zool.* 2014. № 46 (4). P. 997–1001.

250. Klochenko P. D., Shevchenko T. F., Nezbitskaya I. N. (2019) Phytoplankton production and decomposition characteristics in water bodies differing in the degree of their contamination by inorganic compounds of nitrogen and phosphorus. *Hydrobiol. J.*, 2019. Vol. 55. № 3. P. 31–47.

251. Kostiuk R. V., Grubinko V. V. Role of Membrane ATP-ases in Adaptation of Aquatic Organisms to Environmental Factors (a Review). *Hydrobiological Journal*. 2010. № 46 (6). P. 45–56.

252. Kovalenko Yu. O. Physiological and Biochemical Peculiarities of Crucian Carp Adaptation to Water Bodies Pollution by Ammonia Nitrogen. *Hydrobiological Journal*. 2019. Vol 55, № 3. C. 59–66.

253. Krishna Priya K., Ramesh M., Saravanan M., Ponpandian N. Ecological risk assessment of silicon dioxide nanoparticles in a freshwater fish *Labeo rohita*: Hematology, ionoregulation and gill Na^+/K^+ -ATPase activity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015. № 120. P. 295–302.

254. Krot Yu. G., Medovnyk D. V., Prychepa M. V. Peculiarities of Physiological adaptation in Fishes of small Rivers of the Urbanized Territories. *Hydrobiological journal*. 2019. № 55 (1). P. 50–57.

255. Krumschnabel G., Schwarzbaum P. J., Lisch J., Biasi C., Wieser W. Oxygendependent energetics of anoxia-tolerant and anoxia-intolerant hepatocytes. *J. Exp. Biol.* 2000. № 203. P. 951–959.

256. Kuhnert P. M., Kuhnert B. R., Stokes R. M. The effect of in vivo chromium exposure on Na/K - and Mg -ATPase activity in several tissues of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1976. № 15(4). P. 383–390.

257. Kuzminova N. S. Dependence of alkaline phosphatase activity on bioecological parameters of Black Sea fish. *Journal of Ichthyology*. 2016. № 56 (2). P. 298–303.

258. Lallès J. Intestinal alkaline phosphatase in the gastrointestinal tract of fish: biology, ontogeny, and environmental and nutritional modulation. Reviews in Aquaculture. 2019) doi.org/10.1111/raq.12340

259. Lavado R., Urena R., Martin-Skilton R., Torreblanca A., del Ramo J., Raldúa D., Porte C. The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. *Environ. Pollut.* 2006. № 139. P. 330–339.

260. Leonard V Crowley, The Reitman-Frankel Colorimetric Transaminase Procedure in Suspected Myocardial Infarction, *Clinical Chemistry*. Vol. 13. № 6, 1. 1967. P. 482–487.

261. Li A., Yuan X., Liang X.-F., Liu L., Li J., Li B., Tao Y.-X. Adaptations of lipid metabolism and food intake in response to low and high fat diets in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture*. 2016. № 457. P. 43–49.

262. Li Y., Ai Q., Mai K., Xu W., Deng J., Cheng Z. Comparison of high - protein soybean meal and commercial soybean meal partly replacing fish meal on the activities of digestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). *Aquaculture research*. 2014. № 45 (6). P. 1051–1060.

263. Lim C. B., Anderson P. M., Chew S. F., Ip Y. K., Reduction in the Rates of Protein and Amino Acid Catabolism to Slow Down the Accumulation of Endogenous Ammonia: A Strategy Potentially Adopted by Mudskippers (*Periophthalmodon schlosseri* And *Boleophthalmus boddarti*) during Aerial Exposure in Constant Darkness. *Journal of Experimental Biology*. 2001. № 204. P. 1605–1614.

264. Lingwood D., Harauz G., Ballantyne J. S. Regulation of Fish Gill Na⁺-K⁺-ATPase by Selective Sulfatide-enriched Raft Partitioning during Seawater Adaptation. *Journal of Biological Chemistry*. 2005. № 280 (44). P. 36545–36550.

265. Liu S., Vallejo R. L., Palti Y., Gao G., Marancik D. P. Hernandez A. G., Wiens G. D. Identification of single nucleotide polymorphism markers associated with bacterial cold water disease resistance and spleen size in rainbow trout. *Frontiers in Genetics*. 2015. № 6. doi.org/10.3389/fgene.2015.00298

266. Liu Wei, Zhang Xiu-Mei, Wang Li-Bo Digestive enzyme and alkaline phosphatase activities during the early stages of *Silurus soldatovi* development. *Zoological Research*. 2010. № 31 (6). P. 627–632.

267. Liu Z., Zhou Y., Liu S., Zhong H., Zhang C., Kang X., Liu Y. Characterization and dietary regulation of glutamate dehydrogenase in different ploidy fishes. *Amino Acids*. 2012. № 43 (6). P. 2339–2348.

268. Lowry J. O. H., Rosenbrough N. J. Farr A. L. et al. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol. Chem.* № 193. P. 265–275.

269. Lupiáñez J. A. Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. Adaptive response to starvation and a high-protein, carbohydrate-free diet on glutamate dehydrogenase and alanine aminotransferase kinetics. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. № 30 (1). P. 55–63.

270. Malakoff D. Death by suffocation in the Gulf of Mexico. *Conservation Biology*. 1998. № 281. P. 190–192.

271. Malik O. A., Hsu A., Johnson L. A., de Sherbinin A. A global indicator of wastewater treatment to inform the Sustainable Development Goals (SDGs). *Environmental Science & Policy*. 2015. № 48. P. 172–185.

272. Manoj C. K. Hematobiochemical and Histopathological Studies in Labeo Rohita (ham.) Infected with Aeromonas Hydrophila by Immersion Challenge: Dissertation Submitted in the Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Fisheries Science (Fish Pathology and Microbiology)(Doctoral dissertation, Central Institute of Fisheries Education). 2003.

273. Manuel G. M., Molina A. Z. Transaminasas: Valoración y significación clínica. *SEGHNP-AEP*. 2010. P. 267–275.

274. Marco A. Contaminación global por nitrógeno y declive de anfibios. *Rev. Esp. Herp*. 2002. № 16 (5) P. 98–101.

275. Martínez-Porchas M., Martinez-Cordova L. R., Ramos-Enriquez R. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. 2009. P. 158–178.

276. Mason R. P., Laporte J.-M., Andres S. Factors Controlling the Bioaccumulation of Mercury, Methylmercury, Arsenic, Selenium, and Cadmium by Freshwater Invertebrates and Fish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2000. № 38 (3). P. 283–297.

277. Matusiewicz M., Dabrowski K. Utilization of the Bone/Liver Alkaline Phosphatase Activity Ratio in Blood Plasma as an Indicator of Ascorbate Deficiency in Salmonid Fish. *Experimental Biology and Medicine*. 1996. № 212 (1). P. 44–51.

278. Metz J. R. Regulation of branchial Na^+/K^+ -ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperatures. *Journal of Experimental Biology*. 2003. № 206 (13). P. 2273–2280.

279. Mieiro C. L., Pardal M., Duarte A., Pereira E., Palmeira C. M. Impairment of mitochondrial energy metabolism of two marine fish by in vitro mercuric chloride exposure. *Marine Pollution Bulletin*. 2015. № 97 (1-2). P. 488–493.

280. Mohanty B., Mahanty A., Ganguly S., Sankar T. V., Chakraborty K., Rangasamy A., Sharma A. P. Amino Acid Compositions of 27 Food Fishes and Their Importance in Clinical Nutrition. *Journal of Amino Acids*. 2014. doi.org/10.1155/2014/269797

281. Molina R., Moreno I., Pichardo S., Jos A., Moyano R., Monterde J. G., Cameán A. Acid and alkaline phosphatase activities and pathological changes induced in Tilapia fish (*Oreochromis* sp.) exposed subchronically to microcystins from toxic cyanobacterial blooms under laboratory conditions. *Toxicon*. 2005. № 46 (7). P. 725–735.

282. Mondal B., Mondal S., Mondal A., Mandal N. Fish scale derived hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering. *Materials Characterization*. 2016. № 121. P. 112–124.

283. Mondal B., Mondal S., Mondal A., Mandal N. Fish scale derived hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering. *Materials Characterization*. 2016. № 121. P. 112–124.

284. Morcillo P., Esteban M. Á., Cuesta A. Heavy metals produce toxicity, oxidative stress and apoptosis in the marine teleost fish SAF-1 cell line. *Chemosphere*. 2016. № 144. P. 225–233.

285. Muszkiet R., Napierala M. Prospects for the replenishment of a feed protein deficit in aquaculture. *Russian Journal of Marine Biology*. 2014. № 40 (4). P. 233–240.
286. Nardocci G., Navarro C., Cortés P. P., Imarai M., Montoya M., Valenzuela B., Fernández R. Neuroendocrine mechanisms for immune system regulation during stress in fish. *Fish & Shellfish Immunology*. 2014. № 40 (2). P. 531–538.
287. Narra M. R., Rajender K., Rudra Reddy R., Rao J. V., Begum G. The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish *Clarias batrachus*. *Chemosphere*. 2015. № 132. P. 172–178.
288. Nath A. K., Ryu J. H., Jin Y. N., Roberts L. D., Dejam A., Gerszten R. E., Peterson R. T. PTPMT1 Inhibition Lowers Glucose through Succinate Dehydrogenase Phosphorylation. *Cell Reports*. 2015. № 10 (5). P. 694–701.
289. Näslund J., Johnsson J. I. Environmental enrichment for fish in captive environments: effects of physical structures and substrates. *Fish and Fisheries*. 2014. № 7 (1). P. 1–30.
290. Neelima P., Rao K. G., Rao N. G., Jammu C. S. R. Enzymatic alterations as biomarkers of cypermethrin (25% EC) toxicity in a freshwater fish, *Cyprinus carpio* (Linn.). *Int J Fish Aquat Stud*. 2015. № 3 (1). P. 149–158.
291. Nugegoda D., Kibria G. Effects of environmental chemicals on fish thyroid function: Implications for fisheries and aquaculture in Australia. *General and Comparative Endocrinology*. 2017. № 244. P. 40–53.
292. Nicolas M. A., Rueda Gonzale F., Martinez Lopez F. J. Efecto de la realimentación tras un periodo de ayuno sobre el crecimiento en el sargo picudo *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr*. 2002. № 18 (1–4). P. 357–362.
293. Nilson G. E., Renshaw G. E. Hypoxic survival strategies in two fishes: extreme anoxia tolerance in the North European crucial carp and natural hypoxic preconditioning in a coral–reef shark. *J. Exp. Biol*. 2004. № 18. P. 331–339.

294. Olkowska E., Ruman M., Polkowska Ż. Occurrence of Surface Active Agents in the Environment. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2014. doi.org/10.1155/2014/769708

295. Rajamanickam V., Muthuswamy N. Effect of metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common capr (*Cyprinus carpio* L). *Intern. J. Sci. Tech.* 2008. № 2 (1). P. 192–200.

296. Ram R. N., Satyayanesan A. G. Mercurie chloride, cythion and ammonium sulfate induced changes in the brain, liver, and ovarian alkaline phosphatase content in the fish. *J. Channo Puntactus Emir Ecol.* 1985. № (3). P. 263–268.

297. Ramon F., Sanchez P. El lago Maracaibo y su repercusion medioambiental Aguas Continentales y Marinas. 2007/2008. *Geografia Donado a Giecrya*. 30 p.

298. Richards J. G. Na^+/K^+ -ATPase -isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer. *Journal of Experimental Biology*. 2003. № 206 (24). P. 4475–4486.

299. Pilipenko Y. V. Assessment of Food Value of Fishes-Biomeliorators in terms of the Content of Heavy Metals. *Hydrobiological Journal*. 2008. Vol. 44. №. 1.

300. Romanenko V. D., Liashenko A. V., Afanasyev S. A., Zorina-Sakharova Y. Y. Biological indication of ecological status of the water bodies within Kiev city boundaries. *Hydrobiological Journal*. 2010. Vol. 46. № 4. P. 3–24.

301. Romanenko V. D., Potrokhov A. S., Zin'kovskiy O. G. Physiological-biochemical peculiarities of ammonia content regulation in carp. *Hydrobiological Journal*. 2010. Vol. 46. №. 1. P. 56–63.

302. Peng B., Su Y., Li H., Han Y., Guo C., Tian Y., Peng X. Exogenous Alanine and/or Glucose plus Kanamycin Kills Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Metabolism*. 2015. № 21 (2). P. 249–262.

303. Pradhan D., Sukla L. B., Sawyer M., Rahman P. K. S. M. Recent bioreduction of hexavalent chromium in wastewater treatment: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2017. № 55. P. 1–20.

304. Prychepa M. V., Potrokhov O. S., Zinkovskiy O. G. Effects of the Reference Toxicants on Several Biochemical Parameters of Pikeperch Sander *luciperca*. *Hydrobiological Journal*. 2018. Vol. 54. № 3. P. 103–111.
305. Prychepa M. V., Potrokhov O. S. Hormonal Regulation of Adaptive Processes in Fishes to Impact of Abiotic Factors (a Review). *Hydrobiological Journal*. 2016. Vol. 53 № 3. P. 86–98.
306. Prychepa M. V., Potrokhov O. S., Zin'kovskiy O. G. Peculiarities of Biochemical Response of Fish to Anthropogenic Load under Conditions of Urbanization. *Hydrobiological journal*. 2019. Vol. 55. № 3. P. 44–52.
307. Powell C. S., Jackson R. M. Mitochondrial complex I, aconitase, and succinate dehydrogenase during hypoxia-reoxygenation: modulation of enzyme activities by MnSOD. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2003. № 285 (1). P. 189–198.
308. Rodriguez S. S., Borrego J. J., Saint-Jean S. I., (2003) Infectious pancreatic necrosis virus: biology, pathogenesis, and diagnostic methods. *Advances in virus research*. 2003. № 62. P. 113–135.
309. Protasowcki M. Chodyniecki M Biochumulacja Cd, Pb, Cu, Zn w karpie – *Cyprinus carpio* L. w zaleznosci od stezeja w wodzie i czasu ekspozycji. *Lesz. nauk. ryb. mor. i technol. zywn.* 1988. № 17. P. 69–84.
310. Sabae Z. S, Mohamed A. S Efect of Environmental Pollution on the Health of Tilapia spp. from Lake Qarun. *Global Veterinaria*. 2015. № 14. P. 304–328.
311. Sadoul B., Geffroy B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*. 2019. № 94 (4). P. 540–555.
312. Sánchez-Muros M. J., García-Rejón L., García-Salguero L., Higuera M., Lupiáñez J. A. Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. Adaptive response to starvation and a high-protein, carbohydrate-free diet on glutamate dehydrogenase and alanine aminotransferase kinetics. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 1998. № 30 (1). P. 55–63.

313. Sastry K. V, Sunita K. M. Enzymological and biochemical changes produced by chronic chromium exposure in a Teleost fish, *Channa punctatus*. *Toxicol Letters*. 1983. № 16. P. 9–15.
314. Seuela M., Tovarek J. *Cas. Lek.* 1959. № 98 (27). p. 844.
315. Shcherbak V. I., Kravtsova O. V., Linchuk M. I. Assessment of the influence of high concentrations of nitrogen compounds on phytoplankton diversity in the ponds of the Oleksandriya Natural Park (the town of Bila Tserkva, Ukraine) // *Hydrobiological Journal*. 2018. Vol. 54. № 1. P. 19–32.
316. Silbergeld E. K. Blood glucose: A sensitive indicator of environmental stress in fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1974. № 11 (1). P. 20–25.
317. Siscar R., Koenig S., Torreblanca A., Solé M. The role of metallothionein and selenium in metal detoxification in the liver of deep-sea fish from the NW Mediterranean Sea. *Science of The Total Environment*. 2014. № 466–467. P. 898–905.
318. Soengas J. L. Contribution of glucose- and fatty acid sensing systems to the regulation of food intake in fish. A review. *General and Comparative Endocrinology*. 2014. № 205. P. 36–48.
319. Solimini A. G., Cardoso A. C., Heiskanen A.S. Indicators and methods for the ecological status assessment under the Water Framework Directive. Linkages between chemical and biological quality of surface waters Joint Research Centre, European Commission. 262 p.
320. Sullip K. M., Shymal N., Binoy K. Mandal Kinetic of Alkaline Phosphatase in Liver, Kidney, Intestine and Muscle tissue of Red Tilapia Cultured Under Mid-Hill Altitudes of Meghalaya: North eastern India. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. № 9 (6). 2006. P. 1112–1115.
321. Swarup G. Selective dephosphorylation of proteins containing phosphotyrosine by alkaline phosphatases. *J. Biol Chem.*, 1981. № 256. P. 8197–8201.
322. Tabassum H., Ashafaq M., Khan J., Shah M. Z., Raisuddin S. Parvez S. Short term exposure of pendimethalin induces biochemical and histological

perturbations in liver, kidney and gill of freshwater fish. *Ecological Indicators*. 2016. № 63. P. 29–36.

323. Tacchi T. B, Smith B. J, Caceci T, Smith S. A. Distribution of intestinal enzyme activities along the intetinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*. 2000. № 182. P. 317–327.

324. Thangavel P., Sumathiral K., Karthikeyan S., Ramaswamy M. Endocrine response of the freshwater teleost, *Sarotherodon mossambicus* (Peters) to dimecron exposure. *Chemosphere*. 2005. № 61 (8). P. 1083–1092.

325. Tiedemann G., Kublbeck G., Rosmanith J. Interaction of cadmium and lead in fish. *Wiss und Umwelt*. 1984. № 3 B. P. 145–154.

326. Tilak K. S., Lakshmi S. J. Susan T. A. The toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to the fish, *Catla catla* (Hamilton). *J. Environ. Biol*. 2002. № 23. P. 147–149.

327. Tittizer T., Krebs F. Ökosystemforschung: der Rhein und seine Auen: eine Bilanz. Springer. *Verlag Berlin Heidelberg*. 1996. P. 158–160.

328. Tripathi G., Verma P. Differential effects of thyroxine on metabolic enzymes and other macromolecules in a freshwater teleost. *Journal of Experimental Zoology*. 2003. № 296A (2). P. 117–124.

329. U.S. Departament of health and human services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry Atlanta, Georgia, 2008

330. Varadarajan R., Sankar H., Jisha J., Babu P. Sublethal effects of phenolic compounds on biochemical, histological and ionoregulatory parameters in a tropical teleost fish *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Int-nal J. of Sc. and Research Publications*. 2014. № 4, 3. P. 1–12.

331. van der Oost R., Goksoyr A., Celander M., Heida H., Vermeulen N. P. E. Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). II Biomarkers: pollution-induced biochemical responses. *Aquat. Toxicol*. 1996. № 36. P. 189–222.

332. Villalba J. M., Alcaín F. J. Sirtuin activators and inhibitors. *Biofactors*. 2012. № 38 (5). P. 349–359.

333. Wedemeyer G. Physiology of fish in intensive culture systems. *Springer Science & Business Media*. 1996. 227 p.
334. Wepener V, Van Vuren J. H. J., Du Preez H. H. The effect of hexavalent chromium at different pH values on the hematology of *Tilapia sparrmanii* (Cichlidae). *Comp Biochem Physiol*. 1992. № 101 (2). P. 375–381.
335. Wilcove D. S., Chen L. Y. et al 1998 Management costs for endangered
336. Species. *Conservation Biology*. № 12. P. 1405–1407.
337. Winston G. W. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicol*. 1991. № 19. P. 137–161.
338. Wood C.M., Peter P., Wright A. Ammonia and urea metabolism in relation to gill function and acid-base balance in a marine elasmobranch, the spiny dogfish (*squalus acanthias*). *The Journal of Experimental Biology*. 1995. P. 1545–1558.
339. World Wide Fund for Nature. Living planet report 2016: risk and resilience in a new era. Retrieved from 2016
340. Xiao C., Liu Z., Li D., Refaey M. M., Tang R., Li L., Zhang X. Acute nitrite exposure alters the metabolism of thyroid hormones in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Chemosphere*. 2017. № 186. 798–804.
341. Yeasmin S., Hossain A. A., Yeasmin T., Amin M. R. Study of serum ft3, ft4 and tsh levels in pregnant women. *Medicine today*. 2016. № 27 (2). P. 1–4.
342. Yin J., Jiang L., Wen Y., Yao Z., Zhou Q. Treatment of polluted landscape lake water and community analysis of ammonia-oxidizing bacteria in constructed wetland. *Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2009. № 44. P. 722–731.
343. Yakushin V. M., Potrokhov A. S., Zinkovskiy O. G., Romanishin G. M., Kalenichenko K. P., Linchuk M. I. Bacteria Numbers and Proteolytic Activity in the Water of the Lake Located within the Urban Territory. *Hydrobiological Journal*. 2015. № 51 (3). P. 77–86.
344. Yuebo X., Amos T., Kabo-Ban S. Y. Bacterial technology as a sustainable solution to polluted urbanized rivers and wastewater treatment systems in

China. Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation. 2012. № 2. P. 87–93.

345. Zanner R. Über die Wirkung von treibstoffen und Olen auf Regenbogenforellen. *Vom Wasser*. 1962. № 29. P. 142–177.

346. Zheng J.-L., Yuan S.-S., Shen B., Wu C.-W. Organ-specific effects of low-dose zinc pre-exposure on high-dose zinc induced mitochondrial dysfunction in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 2016. № 43 (2). P. 653–661.

Додаток А

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ,
в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Коваленко Ю. О., Примачев М. Т., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Деякі адаптивні реакції карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* (Bloch, 1782)) за надмірного навантаження амонійним азотом. *Рибогосподарська наука України*. 2018. Т. 44, № 2. С. 116–129.

Особистий внесок: відбір проб з іхтіологічного матеріалу та їх обробка, участь в узагальненні даних, підбір фахової літератури, написанні та оформленні статті.

2. Коваленко Ю. О., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Фізіолого-біохімічні особливості реакції гірчака звичайного за хронічної дії дихромату калію. *Наукові записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія*. 2018. Т. 74, № 3–4. С. 58–66.

Особистий внесок: проведення модельних експериментів, відбір та обробка проб, участь в узагальненні даних, підбір фахової літератури та написанні і оформленні статті.

3. Kovalenko Yu. O. Physiological and Biochemical Peculiarities of Crucian Carp Adaptation to Water Bodies Pollution by Ammonia Nitrogen. *Hydrobiological Journal*. 2019. Vol 55, № 3. С. 59–66.

4. Коваленко Ю. О., Шлапак О. О., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Вплив антропогенного забруднення на фізіолого-біохімічні показники риб та їх паразитоценозів. *Рибогосподарська наука України*. 2019. Т. 49, № 3. С. 72–88.

Особистий внесок: забір біологічного матеріалу, визначення проб, обрахування та статистична обробка результатів, узагальнення отриманих даних, підбір фахової літератури та написанні і оформленні статті.

5. Худіяш Ю. М., Причепа М. В., Потрохов О. С., Зіньковський О. Г., Горбатюк Л. О., Коваленко Ю. О., Медовник Д. В. Вплив екологічних умов озер м. Києва на стан іхтіофауни. *Рибогосподарська наука України*. 2020. Т. 51. № 1. С. 28–43.

Особистий внесок: відбір проб для визначення хімічного складу води.

які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Коваленко Ю. О. Перспективи досліджень фізіолого-біохімічного стану популяцій коропових риб за тривалих змін навколишнього середовища в міських водоймах. *Біологічні дослідження – 2017: мат. VIII Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю (Житомир, 14–16 березня 2017). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, 2017. С. 121–123.*

7. Коваленко Ю. О. Хронічний вплив дихромату калію на вміст кортизолу та глюкози у плазмі крові гірчака звичайного *Rhodeus sericeus* (Pallas, 1776). *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: мат. IV Наук-практ. конф. молодих вчених (Київ, 6–7 листопада 2017). Київ, Інститут гідробіології НАН України, 2017. С. 33–34.*

8. Коваленко Ю. О. Вплив алохтонного азоту на активність амінотрансфераз та лужної фосфатази плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) *Біологічні дослідження – 2018. Збірник наукових праць (Житомир, 27 лютого 2018). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, 2018. С. 122–123.*

9. Коваленко Ю. О. Вплив фенолу на активність ферментів азотного та фосфорного обміну амурського чебачка. *Актуальні питання сьогодення. Матеріали міжнар. наук-практ. конф. (Вінниця, 20 березня 2018). Вінниця, Т. 3. С. 12–15.*

10. Коваленко Ю. О. Вплив фенолу на активність ферментів енергетичного та азотного обміну в м'язах молоді чебачка звичайного. *Водні екосистеми та збереження їх біорізноманіття. Мат. I Всеукр. наук-практ. конф. (Житомир, 11–12 квітні 2018). Житомир, ЖДУ ім. І. Франка, С. 19–22.*

11. Шлапак О. О., Коваленко Ю. О. Вплив забруднення водойм сполуками неорганічного азоту на фізіолого-біохімічні показники паразитоценозу карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* (Bloch, 1782)) *Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів. Мат. міжнар. наук-практ. конф. (Київ, 15–17 травня 2018). Київ, 2018. С. 45–47.*

Особистий внесок: участь у заборі біологічного матеріалу, визначенні проб, обрахуванні та статистичній обробці результатів, узагальнення отриманих даних, участь у написанні тез.

12. Коваленко Ю. О., Шлапак О. О. Особливості фізіолого-біохімічних характеристик коропових видів риб в умовах водойм урбанізованих територій та різного складу паразитоценозів. *Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем Мат. V наук-прак конф. мол. вч. (Київ, 14–15 листопада 2018)*. Київ, С. 21–23.

Особистий внесок: участь у заборі тканин, визначенні проб, обрахуванні та статистичній обробці результатів, узагальнення отриманих даних, участь у оформленні та написанні тез.

13. Коваленко Ю. О. Вплив забруднення водойм на зміни активності ферментів азотистого обміну в карася сріблястого та краснопірки звичайної. *Перспективи гідробіологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів. Мат. VIII з'їзду Гідроекологічного товариства України присвячений 110-річчю заснування Дніпровської біологічної станції (Київ, 6–8 листопада 2019)*. Київ, 2019. С. 116–118.

14. Коваленко Ю. О. Зміна вмісту малонового діальдегіду та активності лужної фосфатази у тканинах карася сріблястого (*Carassius auratus* (Bloch, 1782)) за дії токсичного забруднення водойм. *Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів 2019 (Зоологічний кур'єр, № 13). (13–14 листопада 2019)*. Київ, 2019. С. 13–14.