

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Марценюк Вадим Миколайович

УДК 591.3:597.55.2 (574.2:577.151)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АДАПТАЦІЇ
РИБ ДО ДІЇ АБІОТИЧНИХ ТА АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ**

03.00.10 – іхтіологія

Подається на здобуття наукового
ступеня: кандидата біологічних наук

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

_____ В.М. Марценюк
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник (консультант) Потрохов Олександр Спиридонович, доктор
біологічних наук, старший науковий співробітник
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

Київ – 2019

АНОТАЦІЯ

Марценюк В.М. Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) зі спеціальності 03.00.10 «Іхтіологія». – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2019.

На підставі вивчення фізіолого-біохімічних показників риб встановлено видоспецифічні реакції коропа, окуня та плітки на дію підвищеної мінералізації та температури води, а також при її забрудненні токсикантами антропогенного походження. Показано, що ці види риб залучають різні компенсаторні механізми на протидію несприятливим чинникам, при цьому найбільш значну перебудову енергетичного обміну в організмі риб спричиняє підвищена температура води.

Особливу роль при подібній адаптації відіграє активація альтернативних шляхів генерування енергії. Отримано дані щодо гормонального та ферментативного регулювання процесів енергетичного обміну у риб за зміни температури та мінералізації води. Результати дослідження свідчать про те, що первинна реакція у різних видів риб на дію підвищеної температури води може суттєво відрізнятися. При цьому, за підвищення температури води вище зони толерантності риб, функціонування енергетичного обміну в їх організмі погіршується, що за тривалої дії цього чинника призводить до енергетичного виснаження. Так, у коропа відмічене поступове зменшення вмісту тироксину та трийодтироніну у плазмі крові за зростання температури води до 34°C. Варто припустити, що причиною таких змін є сповільнення катаболічних процесів в організмі коропа.

Пропорційне зростання вмісту T4 та T3 у плазмі крові плітки з підвищенням температури води вказує на активацію обмінних процесів,

спрямованих на протидію несприятливому чиннику, а також деяке пригнічення взаємного конвертування цих гормонів. Низка авторів пов'язують такі зміни із інактивацією дихального ланцюга мітохондрій, що ускладнює процес подолання негативної дії високої температури води, а також компенсації гіпоксичного стану тканин.

Вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові окуня свідчить про прискорення енерговитрат в його організмі спочатку, та у подальшому – активацію енергогенеруючих процесів при підвищенні температури. Як і у коропа, це може свідчити про перебудову метаболізму в бік сповільнення катаболічних реакцій у тканинах.

Необхідно зазначити, що вірогідне зниження рівня глюкози в плазмі крові плітки при підвищенні температури води, можливо, пов'язане з використанням цього субстрату на процеси енергозабезпечення адаптації до зростання температури. За показниками вмісту кортизолу в плазмі крові цього виду очевидно, що розвивається стрес-реакція, яка супроводжується мобілізацією енергетичних ресурсів.

Оцінено біоенергетичний стан риб за вмістом аденілових нуклеотидів за впливу абіотичних та антропогенних чинників. Встановлені сезонні особливості енергетичного обміну риб за дії антропогенного забруднення водойми. Виявлено, що в процесі адаптації риб до дії антропогенного забруднення процеси гідролізу АТФ та АДФ у тканинах переважають над їх синтезом. В результаті аденілатний пул у тканинах риб переважно представлений низькоенергетичним фосфатом, що підтверджується низькою величиною аденілатного енергетичного заряду.

Показано, що плітка є найменш пластичним видом порівняно з коропом та окунем за змінами вмісту аденілових нуклеотидів та динамікою різних біоенергетичних індексів під дією абіотичних чинників, зокрема підвищеної температури та мінералізації води. Зниження вмісту глікогену в печінці та кількості білків у тканинах плітки за підвищення мінералізації води також вказує на найменший адаптивний потенціал цього виду.

За підвищення мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ у зябрах коропа та окуня, на відміну від плітки, значно активуються іонообмінні процеси з вірогідним зростанням АТФ-азної активності. Основним шляхом генерування АТФ у коропа є аеробне дихання при збільшенні активності СДГ та ЦО, окунь та плітка застосовують гліколіз, на що вказує пригнічення активності ферментів аеробного дихання та підвищення активності ЛДГ.

Підтверджено, що короп на протидію підвищеній температурі води активує процеси циклу трикарбонових кислот у тканинах, а окунь та плітка – анаеробного дихання. Спрогнозовано, що сумісна дія досліджених чинників може призвести до критичного вичерпання енергетичних ресурсів у малопристосованих видів риби та спричинити зниження їх життєстійкості.

Отримані результати можливо використовувати при прогнозуванні промислових запасів та рибопродуктивності водойм. Показники енергетичних індексів та вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах риби можна використовувати при нормуванні скидів стічних вод, з метою запобігання негативним наслідкам для популяцій.

***Ключові слова:** риби, абіотичні чинники, антропогенні чинники, температура води, мінералізація води, АТФ, АДФ, АМФ, ЛДГ, СДГ, ЦО, АТФ-азна активність, білок, глікоген, глюкоза.*

SUMMARY

Martseniuk V. Features of the regulation of energy supply of fish adaptation to the action of abiotic and anthropogenic factors. – The manuscript.

The thesis for a scientific degree of the biological sciences candidate (Doctor of Philosophy) in specialty 03.00.10 "Ichthyology". – Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2019.

Based on the study of physiological and biochemical indicators of fish defined that specific reactions of carp, perch and dace species on the effect of high mineralization and temperature of water, as well as its pollution with toxicants of

anthropogenic origin. It is shown that these types of fish, involve various compensatory mechanisms for counteraction to unfavorable factors, with the most significant restructuring of the energy exchange in the body of fish that causes by increasing of water temperature.

A special role in this adaptation is played by the activation of alternative ways of energy generation. Hormonal and enzymatic regulation data were obtained during the processes of fish energy exchange due to changes in temperature and mineralization of water. Investigation results indicate that the primary reaction of different fish species to the increasing the temperature of the water effect, may vary significantly.

At the same time, the water temperature rises above the zone of fish tolerance, the functioning of energy metabolism in their body deteriorates that due to the long duration of this factor leads to energy depletion. So, in the carp there is a gradual decrease in the content of thyroxine and triiodothyronine in plasma due to the water increase up to 34°C. It should be assumed that the reason for such changes is slow down of catabolic processes in the carp organism. Proportional increase in the content of T4 and T3 in plasma blood of dace with increasing water temperature indicates the activation of exchange processes aimed at counteraction an unfavorable factor, as well as some suppression of the mutual conversion of these hormones. A number of authors associate such changes with the inactivation of the respiratory chain of mitochondria that complicates the process of overcoming the negative effects of high water temperatures, as well as compensation of hypoxic tissue condition. The content of thyroid hormones in the plasma of the perch shows acceleration energy consumption in its body initially, and in the future - activation of energy generators processes with increasing of the temperature. As with carp, this may indicate a rebuild metabolism toward slowing down of catabolic reactions in tissues.

It should be pointed that the probable reducing in blood glucose levels of dace's blood plasma due to increasing of water temperature, may coincide with the use of this substrate on the processes of energy supply adaptation to temperature rise. According to cortisol content indicators in the blood plasma of this species is an

evidence that develops a stress reaction, which accompanied by the mobilization of energy resources.

The bioenergetic status of fish based on the content of adenyl nucleotides influence was evaluated with the abiotic and anthropogenic factors. Defined seasonal features of power exchange of fish for the effects of anthropogenic pollution of the reservoir. Found (appeared) that in the process of adaptation fish to the action of anthropogenic pollution processes of hydrolysis of ATP and ADP in tissues, predominate over their synthesis. As a result, adenylate pool in fish tissues is predominantly represented by low-energy phosphate, which is confirmed by a low value of adenylate energy charge.

It is shown that dace is the least flexible species compared to the carp and perch according to changes in the content of adenyl nucleotides and the dynamics of various bioenergetic indices under the action of abiotic factors, particularly, the high temperature and mineralization of water.

Decrease the content of glycogen in the liver and the amount of proteins in the dace tissue for increasing water mineralization also points out to the least adaptive potential of this species. For increasing mineralization of water from 0,5 to 2,0 g/dm³ in carp and perch gill, unlike dace, ion-exchange processes significantly grow in ATP activity. The main way of generating ATP in carp is aerobic respiration with increased activity of SDH and CO, perch and dace used glycolysis, as indicated by inhibition of activity of aerobic respiration enzymes and increase of activity of LDH.

It is confirmed that the carp against to the high temperature of the water activates the processes of a cycle of tricarboxylic acids in tissues, perch and dace - anaerobic breathing. It is predicted that the combined effect of the investigated factors can lead to critical exhausting of energy resources of poorly adapted fish species, and lead to a decrease of their viability.

The received results can be used in industrial forecasting stocks and fish productivity of reservoirs. Indicators of energy indexes and content of adenyl nucleotides in fish tissues, can be used to normalize sewage discharges, in order to prevent negative impacts on it's populations.

Keywords: *abiotic factors, anthropogenic factors, water temperature, water salinity, ATP, ADP, AMP, LDH, SDH, CO, ATP-ase activity, protein, glycogen, glucose.*

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових виданнях:

1. **Марценюк В. М.,** Потрохов О. С., Зіньковський О.Г. Адаптивна біохімічна відповідь коропа та окуня на дію підвищеного температурного режиму води // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2017. № 1. С. 83–89 (*Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті*);

2. **Марценюк В. М.,** Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Фізіолого-біохімічні особливості пристосування окуня річкового та коропа звичайного до дії підвищеної температури води // Гідробіологічний журнал. 2017. Т.53, №4. С. 66–75. (*Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті*);

3. **Марценюк В. М.,** Потрохов О. С., Зіньковський О. Г., Причеп М. В. Фізіолого-біохімічний статус окуня річкового (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) в умовах надмірного антропогенного навантаження на водойму // Рибогосподарська наука України. 2017. Т.42, №4. С. 99–111. (*Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті*);

4. **Марценюк В. М.,** Потрохов О. С., Зіньковський О. Г. Особливості енергозабезпечення тканин коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.) за дії підвищеної температури води // Науковий вісник НУБІП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2017. №270. С. 114–127. (*Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті*)

5. **Марценюк В. М.,** Потрохов О. С., Зіньковський О. Г., Причеп М. В., О. М. Водяніцький. Вміст тиреоїдних гормонів, кортизолу та глюкози у плазмі крові як показники видоспецифічної біохімічної відповіді риб на дію підвищеної мінералізації води // Наукові записки Тернопільського

національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Біологія. 2017. № 4. С. 71–77. (*Проведення експериментів, обробка матеріалу, участь в обговоренні результатів і написанні статті*);

6. **Martseniuk V. M.**, Potrokhov O. S., Zinkovskiy O. G. Energy Metabolism in Organs and Tissues of Perch *Perca fluviatilis* under Changes of Water Temperature // *Hydrob. J.* 2018. Vol. 54, 4. P. 85–94. (*Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті*)

Матеріали та тези конференцій у інших виданнях:

1. **Марценюк В.М.** Активність аденозинтрифосфатази як показник адаптивної відповіді риб на дію підвищеної температури води. Біологічні дослідження 2017: матеріали III всеукр. наук.-практ. конф., м. Житомир, 14–16 березня 2017 р. Житомир, 2017. С. 132–133.

2. **Марценюк В.М.** Гормональна відповідь коропа звичайного та окуня річкового на дію підвищеної температури води. Тернопільські біологічні читання: матеріали всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 20–22 квітня 2017 р. Тернопіль, 2017. С. 136–139.

3. **Марценюк В.М.** Життєстійкість коропа звичайного за дії підвищеної температури води. Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: матеріали III наук.-практ. конф. для молодих вчених, м. Київ, 6–7 жовт. 2016 р. Київ, 2016. С. 20–23.

4. **Марценюк В.М.** Гормональний статус окуня річкового та плітки звичайної за умов надмірного антропогенного навантаження на водойму. Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпро, 12–15 вересня 2017 р. Дніпро, 2017. С. 61–64.

5. **Марценюк В.М.** Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах коропа *Suiprinus carpio* L. за дії підвищеної температури води. Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 19–21 вересня 2017 р. Київ, 2017. С. 208–213.

6. Марценюк В.М. Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах окуня річкового *Perca fluviatilis* L. за дії підвищеної температури води. Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: матеріали IV наук.-практ. конф. для молодих вчених, присвяч. 100-річчю НАНУ, м. Київ, 6–7 листопада. 2017 р. Київ, 2017. С. 41–43.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	13
ВСТУП.....	14
РОЗДІЛ 1. ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЮВАННЯ ОСНОВНИХ ШЛЯХІВ ГЕНЕРУВАННЯ ЕНЕРГІЇ У ТКАНИНАХ РИБ ЗА ДІЇ ЕКОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ.	19
1.1. Фізіологічний стан риб за дії екологічних чинників.....	19
1.2. Зміни активності ферментів енергетичного обміну у риб за дії екологічних чинників.	22
1.2.1. Роль сукцинатдегідрогенази у адаптивних реакціях риб	23
1.2.2. Роль лактатдегідрогенази у адаптивних реакціях риб	24
1.2.3. Роль K^+ , Na^+ -залежної АТФ-ази у адаптивних реакціях риб.....	26
1.2.4. Роль цитохромоксидази у адаптивних реакціях риб.....	28
1.3. Метаболізм аденілатів в організмі риб	29
1.3.1. Основні компоненти аденілатного пулу.....	29
1.3.2. Основні біоенергетичні індекси	32
1.4. Нейрогуморальна складова механізму регулювання енергетичного обміну у риб.....	35
1.4.1. Роль кортизолу у адаптивних реакціях риб.	36
1.4.2. Роль тиреоїдних гормонів у адаптивних реакціях риб	37
1.5. Метаболізм глюкози та глікогену при адаптивних реакціях риб	40
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	43
2.1. Характеристика дослідних водойм	43
2.1.1. Озеро Кирилівське	43
2.1.2. Озеро Бабине	45
2.2. Методи проведення модельних експериментів	46
2.3. Іхтіологічні методи досліджень.....	47
2.4. Гідрохімічні методи досліджень	47
2.5. Біохімічні методи дослідження	47
РОЗДІЛ 3 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ ВОДИ	51

3.1. Біохімічні показники плазми крові риб за дії підвищеної температури води.....	51
3.1.1. Гормональна регуляція процесів енергетичного обміну у риб.....	51
3.1.2. Концентрація глюкози в плазмі крові риб за дії підвищеної температури води.....	56
3.1.3. Активність ферментів енергетичного обміну у крові риб за дії підвищеної температури води.	58
3.2. Ферментативна активність тканин риб в умовах підвищеної температури води.....	62
3.3. Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб за дії підвищеної температури води.....	71
3.3.1. Вміст аденілатів у тканинах коропа.....	71
3.3.2. Вміст аденілатів у тканинах окуня.....	74
3.3.3. Вміст аденілатів у тканинах плітки.	78
3.4. Динаміка основних біоенергетичних індексів у тканинах риб за дії підвищеної температури води.....	82
3.5.Зміна вмісту енергетичних субстратів у тканинах риб за дії підвищеної температури води.	93
3.5.1. Вміст глікогену у печінці риб за дії підвищеної температури води....	93
3.5.2.Вміст загальних білків у тканинах риб за дії підвищеної температури води.....	95
РОЗДІЛ 4 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ ВОДИ.....	99
4.1.Зміна біохімічних параметрів плазми крові риб за дії підвищеної мінералізації води.....	100
4.1.1. Гормональний фон у плазмі крові риб та участь гормонів у регуляції процесів енергетичного обміну в їх організмі за підвищення мінералізації води.....	100
4.1.2. Концентрація глюкози в плазмі крові риб за дії підвищеної мінералізації води	103
4.1.3. Активність ферментів енергетичного обміну у крові риб за дії підвищеної мінералізації води.....	105

4.2. Ферментативна активність тканин риб в умовах підвищеної мінералізації води.	108
4.3. Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води.	119
4.4. Зміна величини основних біоенергетичних індексів у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води.	132
4.5. Вмісту окремих енергетичних субстратів у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води.	145
РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН В ОРГАНІЗМІ РИБ.	149
5.1. Гідрохімічний режим досліджуваних водойм м. Києва.	150
5.2. Вміст гормонів у плазмі крові риб в умовах антропогенного забруднення водойм.	153
5.3. Вміст глюкози у плазмі крові риб за дії антропогенного забруднення водойми.	157
5.4. Сезонна динаміка активності ферментів енергетичного обміну в плазмі крові та тканинах риб за дії антропогенного забруднення водойм.	158
5.5. Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб за дії антропогенного забруднення водойм.	167
5.6. Вміст деяких енергетичних субстратів у тканинах риб за дії антропогенного забруднення водойм.	184
РОЗДІЛ 6 УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	190
ВИСНОВКИ.....	198
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	201

Перелік умовних позначень

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

АДФ – аденозиндифосфорна кислота

АМФ – аденозинмонофосфорна кислота

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

СДГ – сукцинатдегідрогеназа

ЦО – цитохромоксидаза

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

нМ – наномоль

ПО – перманганатна окисність

БО – біхроматна окисність

pH – водневий показник

ЦТК – цикл трикарбонових кислот

ДЛМ – дихальний ланцюг мітохондрій

ЕЗ – аденілатний енергетичний заряд

ЕП – енергетичний потенціал

КП – коефіцієнт порівняння

ТКД – термодинамічний контроль дихання

ІФ – індекс фосфорилування

СПАР – синтетині поверхнево активні речовини

ВСТУП

Актуальність теми. Однією з центральних проблем сучасної іхтіології є вивчення резистентності риб та їх адаптації до зміни умов навколишнього середовища [1, 2, 3]. Адаптація організму забезпечується комплексом перебудов, особливу роль в яких відіграють біохімічні механізми, що є основою для розвитку компенсаторних реакцій клітин [4, 5, 6, 7]. При зміні умов середовища або переході організму на іншу стадію розвитку виникають нові завдання, для вирішення яких необхідно враховувати кількісні і якісні зміни у метаболізмі як окремого органу, так і всього організму [8, 9, 10, 11].

Провідну роль при цьому відіграють реакції обміну речовин, внаслідок яких відбувається генерування енергії у вигляді АТФ [12, 13, 14, 15, 16]. Ці процеси особливо важливі у біохімічній адаптації риб до впливу екологічних чинників, зокрема підвищення температурного фону, зміни мінералізації води та її забруднення токсикантами різної хімічної природи [17, 18, 19, 20, 21, 22]. При цьому генерування енергії відбувається різними шляхами, інтенсивність яких також залежить від низки чинників [23]. Серед найбільш впливових чинників можна виокремити гідрологічний, гідрохімічний та температурний режим водойм, який в останні роки істотно змінюється; зміни мінерального складу води у природних водоймах, які внаслідок дії різних природних та антропогенних чинників набувають часто критичних для гідробіонтів величин; антропогенне забруднення водойм різноманітними токсичними сполуками тощо.

Останнім часом з'явилися чисельні роботи, що свідчать про істотне екологічне значення окремих абіотичних та антропогенних чинників для гідробіонтів, особливо для риб [19, 24, 25, 26]. В цих роботах показано зв'язок між інтенсивністю метаболічних реакцій та зміною способу життя в онтогенезі протягом річного циклу, зокрема при голодуванні риб та дозріванні статевих продуктів тощо. Проте, незважаючи на актуальність розкриття механізмів

біохімічної адаптації, вплив підвищеної температури, мінерального складу та токсичного антропогенного забруднення водойм на генерування енергії у водяних організмів вивчено недостатньо.

Відомо, що основними причинами зростання мінералізації води у природних водоймах, підвищення її температури протягом річного циклу є глобальне потепління клімату та недостатність атмосферних опадів [27, 28, 29, 30, 31]. Не менш важливою проблемою є інтенсивне надходження токсичних сполук та біогенних елементів, які з кожним роком лише накопичуються в результаті антропогенної діяльності [32, 33, 34].

Саме тому особливий інтерес має дослідження інтенсивності генерування енергії, зокрема у вигляді АТФ, в організмі риб за різних умов існування. Кількість цієї енергії є визначальною для адаптації водяних організмів до дії екологічних чинників.

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження було вивчення особливостей енергетичного забезпечення тканин коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.), окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) в процесі адаптації їх організму до підвищення температурного фону водойм, зміни мінерального складу води та її надмірного антропогенного забруднення.

Мета дослідження реалізовувалась в ході виконання наступних завдань:

- встановити вміст тиреоїдних та стероїдних гормонів, зокрема тироксину, трийодтироніну та кортизолу, у плазмі крові риб та визначити їх вплив на інтенсивність метаболічних процесів в організмі при змінах температурного режиму, мінерального складу води та при антропогенному забрудненні водойми;
- дослідити зміни активності окремих ферментів енергетичного обміну, зокрема лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в процесі пристосування риб до дії абіотичних та антропогенних чинників;

- дослідити йонний обмін у риб за активністю K, Na–АТФ-ази під дією екологічних чинників;
- з'ясувати вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), величини основних біоенергетичних індексів у тканинах риб за різного температурного режиму, мінерального складу води та антропогенного забруднення водойми;
- вивчити роль основних енергетичних субстратів (білка, глікогену) у процесах адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників.

Об'єкт дослідження – механізми регуляції енергозабезпечення адаптації коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.), окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) до зміни екологічних чинників.

Предмет дослідження – процеси генерування енергії у риб та їх регуляція за умов підвищеної температури та мінералізації води й надмірного антропогенного забруднення водойми.

Методи дослідження – загальноприйняті гідрохімічні, іхтіологічні, біохімічні та статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. На підставі дослідження фізіолого-біохімічного стану риб встановлено видоспецифічні реакції коропа, окуня та плітки на дію підвищеної мінералізації та температури води, а також при надмірному антропогенному забрудненні водойм. Вперше показано, що на протидію несприятливим чинникам різні види риб залучають різні компенсаторні механізми. Особливу роль відіграє активація альтернативних шляхів генерування енергії. Отримано нові дані щодо гормонального та ферментативного регулювання процесів енергетичного обміну у риб за зміни температури та мінералізації води. Оцінено біоенергетичний стан риб за вмістом аденілових нуклеотидів за впливу абіотичних та антропогенних чинників. Вперше встановлено сезонні особливості енергетичного обміну риб за дії різного рівня антропогенного забруднення. Показано, що плітка є найменш пластичним видом порівняно з коропом та окунем, за змінами вмісту аденілових нуклеотидів під дією абіотичних чинників.

Підтверджено, що короп на протидію підвищеній температурі води активує процеси циклу трикарбонових кислот у тканинах, а окунь та плітка – анаеробного дихання.

Практичне значення одержаних результатів. За біоенергетичним станом тканин риб різних таксономічних груп можна оцінити негативну дію абіотичних та антропогенних чинників середовища. Отримані результати можливо використовувати при прогнозуванні промислових запасів та рибопродуктивності водойм. За енергетичними індексами та вмістом аденілових нуклеотидів в тканинах риб можна проводити нормування скидів стічних вод, щоб не зашкодити їх популяціям. Фізіолого-біохімічні показники риб можуть бути використані для біоіндикації та моніторингу екологічного стану водойм. Отримані результати можуть також бути використані в навчальному процесі при викладанні дисциплін іхтіологічного, фізіологічного, біохімічного та екологічного змісту на факультетах ВНЗ природничого напрямку.

Особистий внесок дисертанта. 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 із співробітниками відділу біології відтворення риб Інституту гідробіології НАН України. Співвиконавці приводяться 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 дисертації. Основні результати досліджень, наведені в дисертації, доповідалися на 6 конференціях: III Науково-практична конференція для молодих вчених «Сучасна гідроекологія. Місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2016); VIII Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Біологічні

дослідження 2017» (Житомир, 2017); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Тернопільські біологічні читання», присвячену 20-ти річчю заснування наукового фахового видання України: «Наукові записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія» (Тернопіль, 2017); II Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем» (Дніпро, 2017); IV Науково-практична конференція для молодих вчених «Сучасна гідроекологія. Місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем», присвячена 100-річчю Національної академії наук України (Київ, 2017); X Міжнародна іхтіологічна науково-практична конференція «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології» (Київ, 2017).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 12 наукових праць, з яких 6 – у фахових виданнях, 6 – у матеріалах та тезах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 225 сторінках друкованого тексту. Вона складається зі вступу, аналітичного огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 3 розділів власних досліджень з обговоренням і узагальненням одержаних результатів, висновків і списку використаної фахової літератури. Текст ілюстровано 70 рисунками і 2 таблицями. Список використаної фахової літератури містить 237 джерел, із них 140 латиною.

РОЗДІЛ 1. ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЮВАННЯ ОСНОВНИХ ШЛЯХІВ ГЕНЕРУВАННЯ ЕНЕРГІЇ У ТКАНИНАХ РИБ ЗА ДІЇ ЕКОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ.

1.1. Фізіологічний стан риб за дії екологічних чинників

Живі організми – це відкриті термодинамічні системи, функціонування яких потребує постійного притоку речовин та енергії. Обмеження надходження поживних речовин, голод, різного роду біотичні, абіотичні та антропогенні чинники викликають реорганізацію фізіологічних та біохімічних процесів в організмі, тим самим порушуючи компенсаторну спрямованість основних метаболічних механізмів [35]. До основних абіотичних чинників у водному середовищі можна віднести температуру, вміст розчиненого у воді кисню та її мінералізацію. Зміна температури впливає не лише на швидкість проходження хімічних реакцій, але й визначає загальний фізіологічний стан організму [36, 37, 38]. Її вплив на якісні і кількісні показники гідроекосистем завжди викликав підвищений інтерес. Особливо визначальним цей чинник став в останні десятиліття, адже за даними доповіді Міжнародної групи експертів з питань зміни клімату, середня температура повітря над суходолом за останні сто років зросла на $0,74 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ [27].

Діапазон температур для різних форм життя порівняно широкий, але для гідробіонтів навіть незначні коливання цього показника можуть викликати значні зміни у метаболізмі [39, 40]. Відомо, що температура тіла риб залежить від температури навколишнього середовища, тому вона відіграє важливу роль у життєдіяльності риб: їх русі, живленні, рості та розмноженні. Для кожного виду риб існують свої оптимальні умови, за яких вони відчують себе добре і всі життєві процеси проходять узгоджено [40, 41, 42]. Однак за їх змін у певному діапазоні, який характерний для ареалу поширення окремого виду риб, сформувалися пристосувальні механізми, що компенсують порушення метаболізму, викликані коливанням температури водного середовища. Також,

при перевищенні кліматичних норм подібні механізми адаптації риб можуть бути вже недієвими, що призведе до виснаження організму та можливої його загибелі [1, 41, 43].

У разі зміни середовища існування у процесі акліматизаційних робіт, або при зміні абіотичних чинників існуючого ареалу поширення риб, вірогідний прояв раніше малопомітних властивостей або особливостей поведінки акліматизованого виду [39, 44, 45]. Внаслідок цього відбуваються морфо-фізіологічні та біохімічні зміни в організмі і можливе розширення температурних меж його існування [20, 30]. У подальшому, це дозволяє конкретним видам риб не лише виживати, але й відтворюватись та розповсюджуватись, домінуючи у таких умовах. Згадані процеси можуть свідчити на користь фізіологічної адаптації.

Підвищення середньостатистичної температури повітря і води, окрім безпосереднього впливу, несе за собою низку супутніх проблем, зокрема підвищення мінералізації та зміну йонного складу води гідроекосистем [3, 46; 47, 48]. Особливо гостро ці зміни відчутні на мілководді [28, 34, 49]. За таких обставин стеногалінні організми також змушені залучати низку адаптивних механізмів для збереження нормальної життєдіяльності. В результаті такого впливу в організмі риб порушуються процеси осморегуляції, функціонування видільної системи, а також змінюється інтенсивність метаболізму в цілому [50, 51, 52].

Важливу роль у процесах осмотичної регуляції в організмі риб відіграють багаті на мітохондрії епітеліальні клітини зябер [53, 54, 55]. Саме ці ділянки забезпечують активний йонний транспорт, у чому також залучена низка ферментів йонного обміну. У разі необхідності у стеногалінних організмів запускається механізм своєчасної екскреції надлишкових іонів для забезпечення осмотичного балансу організму. Подібні процеси вимагають додаткового енергопостачання, що відображається у зміні споживання кисню тканинами риб [9, 24, 51].

Проте не лише абіотичні чинники здійснюють безпосередній вплив на метаболізм гідробіонтів. Нагромадження величезної кількості відходів виробництва і побуту, які в кінцевому результаті потрапляють до водойм, є однією із причин глобальної екологічної кризи [3, 53, 56]. Більша частина хімічних речовин, що надходять у водойми із стічними водами та атмосферними опадами, є токсичними для гідробіонтів [57, 58]. Надлишок одних речовин у природному середовищі або наявність інших призводить до зміни екологічного стану водойми, що неминуче впливає на якісний та кількісний склад біоти. Це може відображатись на таких важливих показниках як біорізноманіття та продуктивність водойм [59, 60]. Також, встановлено, що вплив різноманітних токсикантів на водні екосистеми має комплексний характер, а роль окремих її компонентів не завжди можна виділити і оцінити [58]. Окрім цього, відомо, що ступінь токсичності для організмів змінюється протягом року залежно від поведінки риб та їх фізіологічного стану у різні пори року. Особливо гостро ця проблема постає у містах, де в умовах урбанізації окрім промислових відходів у водойми зливаються стоки комунального господарства, які становлять близько 20% від загальної частки стічних вод [53].

Реакція на токсичний вплив у риб також проявляється у вигляді неспецифічних змін загального адаптаційного синдрому – стрес-реакції, яка, як підтверджено сучасними дослідженнями, не обходиться без різкого збільшення інтенсивності перекисних процесів та підвищеного споживання енергії [14, 54].

Всі механізми адаптації риб до вищезгаданих чинників полягають у забезпеченні тканин енергетичними ресурсами [12, 54, 61]. Для подолання більш тривалих енерговитрат організмом риб використовуються ліпіди та енергоємні сполуки їх обміну, як пластичні енергоресурси. Також, за тривалої дії стресових умов на організм риб для забезпечення енергетичних потреб тканин залучається значна кількість білків [8, 11, 54]. Чимало енергії виділяється при обміні вуглеводів в організмі риб. Відомо, що саме вуглеводневий обмін забезпечує організм найбільшою кількістю енергії.

Проте, всі згадані шляхи зводяться до одного, центральної частини загального шляху катаболізму – циклу трикарбонових кислот, в ході якого відбувається перетворення двох- і трьохвуглецевих сполук, що утворюються як проміжні продукти в організмах при розпаді вуглеводів, жирів і білків до CO_2 [5, 7, 13]. За нормальних умов цикл трикарбонових кислот та гліколіз є основними шляхами генерування енергії у живих організмах.

1.2. Зміни активності ферментів енергетичного обміну у риб за дії екологічних чинників.

Відомо, що пристосувальні механізми метаболізму риб, викликані коливаннями різних екологічних чинників, тісно пов'язані із виробленням макроергічних зв'язків у аеробних та анаеробних шляхах енергетичного обміну [3, 62, 63]. Про активність функціонування гліколізу та циклу трикарбонових кислот частково можна судити по активності окремих ферментів енергетичного обміну.

Однак ці процеси регулюються багатьма механізмами. Найголовнішим механізмом регуляції метаболізму в організмі риб є контроль кількості ферментів. До числа регулюючих механізмів відносять також контроль швидкості розщеплення субстратів ферментами (наприклад розщеплення лактату, глюкози або глікогену) та контроль каталітичної активності ферментів [7, 14]. Відомо, що метаболізм риб схильний до так званого зворотного алостеричного контролю, який полягає в тому, що в багатьох біосинтетичних шляхах перша реакція може бути інгібованою кінцевим продуктом [4, 64, 65]. Тому можна стверджувати, що таке пригнічення відбувається за принципом зворотного зв'язку. У регуляції обміну речовин і енергії у живих організмів, зокрема і у риб, має значення й те, що метаболічні шляхи синтезу і розпаду майже завжди роз'єднані, причому встановлено, що це роз'єднання підсилюється компартменталізацією клітин під дією різних чинників [4, 66]. Наприклад, місцем окиснення жирних кислот у клітинах є мітохондрії, тоді як

їх синтез відбувається в цитозолі [67, 68]. Багато реакції метаболізму схильні до деякого регулювання з боку так званого енергетичного статусу клітини, показником якого є енергетичний заряд, який визначається сумою молярних фракцій АТФ і АДФ [7]. Тому активність ферментів енергетичного обміну є значущою при дослідженні енергетичного статусу тканин риб.

Зміна ферментативної активності лімітує перебіг багатьох біохімічних реакцій, що протікають в організмі риб. Кореляція між температурою середовища і ферментативною активністю в різних тканинах організму регулюється, в деяких випадках, за законом Вант-Гоффа і Арреніуса, тобто із збільшенням активності вдвічі при підвищенні температури на 10°C [5, 17, 40]. Проте, в більшості випадків закон не дотримується, особливо у холонокровних тварин. Той факт, що ферменти є гетерогенними та кожен ізофермент показує характер протікання реакцій в певному конкретному органі, може бути одним із механізмів, який пойкилотермні тварини використовують для компенсації зміни різних екологічних чинників [70, 71]. Тому важливим є вивчення і порівняння активності ферментів, що каталізують реакції не лише у крові, а й у різних органах, зокрема у печінці, м'язах та зябрах.

Встановлено, що активність ферментів енергетичного обміну (лактатдегідрогенази та сукцинатдегідрогенази) великою мірою залежить від змін екологічних чинників, а також є важливим показником термоадаптації риб [12, 65, 73].

1.2.1. Роль сукцинатдегідрогенази у адаптивних реакціях риб

Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) (КФ 1.3.5.1) – важливий фермент циклу трикарбонових кислот (ЦТК), який каталізує реакцію окиснення сукцинату до фумарату [7, 13]. Водночас, СДГ є єдиним ферментом (ЦТК), що бере безпосередню участь в утворенні макроергічного фосфатного зв'язку, а також являється найчутливішою ланкою дихального ланцюга мітохондрій [73].

Встановлено, що цей фермент бере участь у здійсненні регуляції і взаємозв'язку окремих шляхів не тільки окислювального, але й пластичного обміну [74].

Оскільки СДГ у великій мірі є киснезалежним ферментом, то зниження його активності може свідчити про настання гіпоксії у тканинах риб. Також, численними дослідженнями був встановлений зв'язок між цим ферментом та тиреоїдними гормонами, а саме збільшення їх вмісту спричиняє підвищення активності СДГ, наслідком чого є активація окиснення сукцинату [10, 75]. Значна кількість токсикантів (важкі метали, СПАР та ін.) спричиняють інгібування активності сукцинатдегідрогенази у тканинах риб, що, очевидно, є наслідком комплексного впливу цих сполук на фермент, у результаті чого білковий ланцюг втрачає свою нативну структуру [76, 77, 78]. Окрім цього відомо, що зростання інтенсивності окиснення сукцинату у тканинах риб за різних екологічних чинників часто відбувається за рахунок активування додаткових шляхів його утворення [78, 79]. Враховуючи те, що СДГ є інтегральним білком внутрішньої мембрани мітохондрій, то він безпосередньо пов'язаний із ланцюгом переносу електронів [80]. Зниження активності ферменту напрямую пов'язане із пригніченням генерування АТФ. Тому, активність СДГ є лімітуючим показником у характеристиці стану енергетичного обміну у риб.

1.2.2. Роль лактатдегідрогенази у адаптивних реакціях риб

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) (КФ 1.1.1.27) – важливий фермент обміну глюкози, який каталізує реакцію перетворення піровиноградної кислоти в молочну [13, 33, 81]. Щодо активності ЛДГ, то вона великою мірою регулюється гормональною системою. Високий рівень тироксину знижує синтез ферменту, точніше окремих його ізоформ [82, 83]. Було відмічено, що в основному такі зміни відбуваються при адаптації організму до несприятливих умов, зокрема температури та мінералізації [64, 84, 85]. Так за зміни мінералізації води ЛДГ забезпечує нормальне функціонування енергетичного

обміну, що проявляється в підвищенні кількості глюкози та лактату в печінці та м'язах [14, 82, 86]. Відомо, що функціональна активність ЛДГ зростає при отруєнні риб токсикантами різної природи, зокрема важкими металами та органічними забруднювачами [3, 87]. Також, активування ферменту спричиняє настання гіпоксичних умов в організмі риб. Із підвищення температури води зростає каталітична активність ЛДГ, що свідчить про переважання анаеробного шляху розщеплення глюкози над аеробним. Настання гіпоксичного шоку, спричиненого зростанням температури води, зумовлює зміну активності м'язової та печінкової ЛДГ у риб у сторону посиленої утилізації лактату [3, 82, 88, 89].

У кожній тканині організму функціонує своя специфічна ізоформа ЛДГ. Із літературних джерел відомо, що ізоформа ЛДГ5 переважно забезпечує анаеробну респірацію, перетворює піруват у лактат та забезпечує йонний транспорт, шляхом продукування додаткової кількості АТФ [82, 89]. Також встановлено, що у печінці окуня є специфічна ізоформа ЛДГ групи D, яка бере участь у синтезі глюкози із лактату та сприяє забезпеченню однієї з важливих функцій печінки – підтриманню рівня глікемії у крові [83]. У м'язах риб проявляють високу активність ізоферменти ЛДГ із субодинацями A, які беруть участь у процесі анаеробного гліколізу і таким чином забезпечують синтез АТФ у м'язах при навантаженні [4, 33, 59].

При зміні температури відбувається реорганізація кінетичних властивостей для кожного ізоферменту: збільшення максимальної швидкості реакції і зниження фермент-субстратної спорідненості при підвищенні температури, та зменшення максимальної швидкості реакції і підвищення фермент-субстратної спорідненості при зниженні температури [15, 65, 89]. Таким чином, температурне налаштування кінетичних властивостей ізоферментів ЛДГ дозволяє організму риб адаптуватися до різних температурних умов, шляхом нормалізації рівня та напрямку обміну лактату при необхідній температурі [7, 82].

Отже, вплив абіотичних та антропогенних чинників на організм риб спричиняє реорганізацію процесів гліколізу у їх тканинах, тим самим визначаючи загальний стан метаболізму. Результати численних досліджень доводять, що активність ЛДГ є надійним біомаркером при адаптації риб до згаданих умов. Це дозволяє використовувати цей критерій при діагностиці фізіологічного стану риб за умов зміни клімату та дії токсикантів.

1.2.3. Роль K^+ , Na^+ -залежної АТФ-ази у адаптивних реакціях риб.

K^+ , Na^+ -залежна АТФ-аза (КФ 3.6.3.9), фермент із групи транспортних аденозинтрифосфатаз, також відіграє важливу роль у процесах адаптації до підвищеного температурного режиму та астатичного йонного складу водойм [90, 91]. Зміна її активності є прикладом біохімічної адаптації при модифікаційних процесах водно-сольового обміну. Численні дослідження показали, що зростання зябрової АТФ-ази у риб відбувається в результаті підвищення у плазмі крові концентрації йонів натрію та хлору. Це доводить важливу роль цього ферменту у забезпеченні процесів осморегуляції [92, 93]. Також відомо, що мембранна K^+ , Na^+ -АТФ-аза однією із перших забезпечує формування первинної реакції організму на дію чинників і запускає механізми формування довготривалої адаптації [94, 95].

Інтенсивність процесів окиснення та фосфорилування напряму лімітуються активністю АТФ-ази. Також встановлено, що цей фермент тісно взаємопов'язаний із гормонами інтерренальної залози (зокрема кортизолом) та гіпофізу (соматотропіном) [96, 97, 98, 99]. Це має важливе значення у забезпеченні осмотичної рівноваги тканин риб, оскільки зазначені гормони опосередковано залучені у адаптацію до високомінералізованої води. Тому, підвищення активності АТФ-ази можна розглядати як адаптивну відповідь організму риб на подолання явища стресу, викликаного швидкими змінами сольового складу води.

Низка досліджень останніх років доводить, що АТФ-аза відіграє велику роль у процесах обміну глюкози та амінокислот. Вона підтримує різницю осмотичного градієнту між зовнішнім та внутрішнім середовищем, забезпечує тканинний гомеостаз та підтримує життєво важливі функції клітин [55, 100].

За адаптації риб до зміни температурного режиму, важливу роль відіграють перебудови, які відбуваються у клітинних мембранах. Роль АТФ-ази при цьому може бути ключовою не тільки у забезпеченні структурної цілісності мембран, але й у підтриманні їхнього функціонального статусу, перш за все, йонного обміну [14].

Не менш важлива роль АТФ-ази у забезпеченні основних шляхів генерування енергії (гліколізі та циклі Кребса). При настанні несприятливих умов в організмі риб виникає потреба у підвищеній кількості енергетичних ресурсів. У такому випадку інтенсифікується синтез АТФ, та в подальшому відбувається мобілізація енергії шляхом гідролізу АТФ ферментом АТФ-азою [101, 102]. Зв'язана з мембранами клітин АТФ-аза використовує енергію гідролізу АТФ у процесі переносу йонів натрію та калію у клітину для підтримання мембранного потенціалу [90, 103]. Щодо кисневого режиму водойм, то зниження активності ферменту, в свою чергу, свідчить про ощадливе використання АТФ клітинами в умовах гіпоксії. Низка продуктів антропогенного забруднення змінюють активність АТФ-ази та порушують утилізацію АТФ, що у подальшому негативно відображається в обмінних процесах тканин риб [8, 55].

Протонна АТФ-аза є також ферментною системою, відповідальною за синтез АТФ за рахунок енергії електрохімічного потенціалу та підтримання критичного рівня мембранного потенціалу за рахунок розпаду АТФ. Використовуючи йони H^+ і OH^- , що знаходяться з обох сторін мембрани, фермент може працювати у зворотньому напрямку, тобто функціонувати і як АТФ-аза і як АТФ-синтаза [82, 104, 105].

Отже, активність АТФ-ази у тканинах риб є одним із ключових характеристик функціонування енергетичного та йонного обмінів.

1.2.4. Роль цитохромоксидази у адаптивних реакціях риб

Цитохромоксидаза (ЦО) (КФ 1.9.3.1) – векторний фермент внутрішньої мембрани мітохондрій, що відіграє ключову роль у регуляції швидкості окисного фосфорилювання та є надзвичайно чутливим до чинників різної природи [106, 107]. Така надрегульованість пов'язана з тим, що векторні ферменти виконують важливі функції і мають великий запас адаптивних можливостей [16, 108]. На рівні цитохромоксидази може відбуватися роз'єднання окислювального фосфорилювання та тканинного дихання у тканинах риб, що можна розглядати як компенсаторну реакцію клітини внаслідок дії різних токсикантів [13, 109, 110, 111]. За результатами численних досліджень ЦО, як ключовий фермент біоенергетичних процесів, є важливим індикатором стану аеробного окиснення у живих організмів [112, 113, 114]. Також, цитохромоксидаза знаходиться в тісних еквімолярних взаєминах із сукцинатдегідрогеназою, оскільки ці ферменти розташовані відповідно в кінці на початку дихального ланцюга, та організовані в кристах мітохондрій комплексними ансамблями із правильними проміжками. Численні автори говорять, що зниження активності ЦО за дії несприятливих чинників у риб відбувається в результаті обмеження надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c [115].

Відомо, що активність ЦО напряду залежить від кисневого та температурного режиму середовища [116]. Крім того, враховуючи великі кількості надходження до водойм токсикантів різної природи (нафтопродуктів тощо), негативна дія на організм риб посилюється, тим самим блокуючи дихальний ланцюг як піридиннуклеотидів, так і флавопротеїдів [79, 117, 118]. Тому використання величини активності цього ферменту є доцільним при дослідженні впливу абіотичних та антропогенних чинників на організм гідробіонтів, зокрема для пошуку біохімічних біомаркерів.

1.3. Метаболізм аденілатів в організмі риб

1.3.1. Основні компоненти аденілатного пулу

У процесі життєдіяльності організму відбувається безперервний перерозподіл енергії, накопиченої в формі макроергічних (високоенергетичних) речовин [7, 13, 69]. Звільнена при гідролізі енергія використовується для багатьох енергоємних процесів. Основне продукування макроергічних речовин має місце при біологічному аеробному окисненні різних органічних субстратів (вуглеводів, жирів і білків) [40, 119, 120].

Відомо, що у клітинах містяться різні біофосфати з різним енергетичним потенціалом. Залежно від кількості енергії, яка акумульована в макроергічних зв'язках цих сполук, усі біофосфати умовно поділяють на три групи: надвисокоенергетичні фосфати, високоенергетичні фосфати (аденозинтрифосфат) та низькоенергетичні фосфати (аденозиндифосфат, аденозинмонофосфат) [69]. Саме АТФ, АМФ та АДФ є основними компонентами при дослідженні аденілатного пулу. Енергетичний стан клітин, як відомо, визначається вмістом АТФ, АДФ, АМФ, сумарною концентрацією аденілових нуклеотидів, їх співвідношенням та контролюється енергетичним зарядом [69, 112, 121]. Зміна вмісту АДФ та АМФ, зокрема зниження їх частки у тканинах риб, часто свідчить про сповільнення катаболічних процесів у метаболізмі аденілатів, а також пригнічення окислювального фосфорилування [15, 122].

За дії несприятливих чинників стабілізація рівня АТФ і «переключення» цитоплазматичного пулу аденілатів на низькоенергетичний стан відбувається під впливом зростання АТФ-азного навантаження [21, 123]. У низькоенергетичному стані, який характеризується пониженими значеннями концентрації АТФ, пул аденілатів розряджений і присутній, головним чином, у формі АМФ [5].

Відомо, що за стресових умов у вищих хребетних, цикл пуринових нуклеотидів функціонує більш-менш нормально, але у риб, зокрема при аноксії

у сріблястого карася та інтенсивному плаванні у лосося, виявлено накопичення інозинмонофосфату (ІМФ) і його перехід у аденілати лише при виході риби зі стресу [124]. Тому вірогідно, що стресові умови безпосередньо впливають на обмін аденілатів в організмі гідробіонтів. У м'язах риб міозинова АТФ-аза є головним споживачем АТФ та джерелом утворення АДФ, та через міокіназну реакцію в подальшому відбувається продукування АМФ. Підвищення вмісту АМФ у тканині може вказувати на домінування дефосфорилування АТФ і АДФ, та пригнічення реакцій перетворення АМФ [13, 69, 125]. Також, на зниження рівня АТФ та зростання АМФ реагують чисельні ферменти аденілатної системи, яких називають «енергетичними сенсорами клітин». Тому АМФ можна розглядати як важливу ланку проведення сигналу в реакціях забезпечення клітинного гомеостазу. Експериментально встановлено, що переключення метаболізму в низькоенергетичний стан у риб, зазвичай, супроводжується дезамінуванням АМФ до ІМФ [126].

Проте, основною макроергічною сполукою живих організмів є молекула аденозинтрифосфату (АТФ), яка містить два макроергічні зв'язки. Окрім цього, АТФ є субстратом для чисельних мембранозв'язаних ферментів (АТФ-ази, аденілатциклази) [7, 127].

Дослідження останніх років показали, що часто виникають внутрішньоклітинні порушення генерування енергії у гідробіонтів, передумовою чого може бути низка причин: порушення транспорту поживних речовин через клітинну мембрану, порушення центральних внутрішньоклітинних метаболічних шляхів (пригнічення гліколізу, порушення циклу Кребса, розлади пентозофосфатного шляху, пригнічення β -окиснення жирних кислот, порушення процесів дезамінування амінокислот), розлади процесів окиснення в мітохондріях, а також їх роз'єднання із процесом фосфорилування тощо [40, 119]. Як наслідок порушується транспортування АТФ із мітохондрій до місць використання у тканинах організму риб.

Окрім основних шляхів генерування енергії у риб, також має місце пентозофосфатний цикл [23, 128]. Відомо, що протікання його реакцій

переважає в еритроцитах статевих залоз, корі надниркових залоз, а також у печінці. Хоча окиснення в пентозофосфатному циклі складає всього 2% від основного обміну вуглеводів (при порушенні синтезу інсуліну може збільшуватися до 6%), для організму гідробіонтів значення цього циклу дуже велике [129]. Як відомо, головною особливістю цього циклу є утворення пентоз, накопичення НАДН₂ – коферменту дегідрогеназ, що бере участь в синтезі нуклеїнових кислот, холестерину (важливого субстрату для утворення кортизолу), жирних кислот, активації фолієвої кислоти та синтезі АТФ [10, 61]. Пентозофосфатний цикл забезпечує також процеси гідроксилування, необхідні для синтезу біогенних амінів (катехоламінів) та стероїдних гормонів кори надниркових залоз [122]. Послідовний ланцюг реакцій пентозофосфатного циклу призводить до утворення рибулозо-5-фосфату, який йде на побудову нуклеотидів (зокрема АТФ, АДФ та АМФ), або серією зворотних реакцій перетворюється в гексозофосфати, які використовуються в гліколітичному циклі [122].

Встановлено, що вплив абіотичних чинників, зокрема температури спричиняє порушення енергетичного обміну у тканинах риб, стимулює мобілізацію всіх енергетичних ресурсів клітини, органу або системи органів, а також може бути однією із причин інтенсифікації енергопродукування з наступним розвитком енергодефіциту. Останнє призводить до зниження швидкості окиснення субстратів мітохондрій, роз'єднання окисного фосфорилювання та генерування активних форм кисню [112, 116, 130].

Енергетичні процеси в різних тканинах одного організму мають свої особливості. За однакових умов в одних тканинах організму може спостерігатися поступове підвищення активності клітинних біоенергетичних процесів, зайнятих як у сфері енергопродукування, так і в реакціях з використанням енергії, а в інших активуватися зворотні процеси [11, 15, 131].

Дослідженням аденілових нуклеотидів чимало вчених. В окремих роботах було встановлено, що нормальні концентрації АТФ у білих м'язах різних видів прісноводних риб варіює від 3,91 до 6,59 мкмоль/г [132]. Концентрація різних

аденілатів у білих м'язах риб не пов'язана з природною формою видової плавальної діяльності. Інші дослідження показали, що за розвитку гіпоксії в організмі риб концентрації АТФ у деяких видів знижувалась [132]. Часто, зменшення концентрації АТФ не відображається в стехіометричному збільшенні АДФ або АМФ, а в зменшенні загальної концентрації аденілатциклази [126, 127, 129]. Чутливість до гіпоксії у риб, виражена змінами у аденілатних концентраціях, пов'язана з природним рівнем видової поведінки та перевагами середовища проживання [132]. Тому, зазначена вище інформація вказує на важливість застосування цих показників у діагностиці фізіологічного стану гідробіонтів, а також залучення його у систему біомоніторингу природних популяцій риб.

1.3.2. Основні біоенергетичні індекси

Утворення енергії з «метаболічного палива» є функцією катаболічних шляхів, які перетворюють багаті на енергію з'єднань в енергетично збіднені сполуки [7, 74, 69]. У цьому процесі генеруються редуковані коферменти (НАДН, НАДФН і ФАДН₂), а також АТФ. Ці відновлені коферменти і АТФ потім використовуються для синтезу біомолекул через анаболічні шляхи [40, 133]. Відомо, що катаболічні шляхи є процесами деградації, які отримують енергію від сполук з використанням окисно-відновних реакцій для генерування АТФ, в той час як анаболічні шляхи є біосинтетичними процесами, які використовують енергію з окисно-відновних реакцій і АТФ [10].

Для більш глибокого розуміння біоенергетичних процесів, що відбуваються в організмі риб, також розраховують значення численних біоенергетичних індексів. Сюди можна віднести значення індексу фосфорилювання, коефіцієнту порівняння, термодинамічного контролю дихання та енергетичного потенціалу клітини. Параметри цих показників тісно пов'язані між собою, адже великою мірою залежать від вмісту та співвідношення основних аденілатів [10, 123]. Також не менш важливу роль

при дослідженні біоенергетики тканин риб відіграє кількість неорганічного фосфору, утвореного в наслідок відповідних метаболічних процесів [122].

Здатність клітини виконувати енергозалежні процеси (наприклад транспорт іонів, біосинтез білка) визначається величиною аденілатного енергетичного заряду (ЕЗ) [134, 135]. Перерозподіл між АТФ, АДФ та АМФ визначає зміни згаданого показника. Збільшення ЕЗ викликає активацію ферментів, які утилізують АТФ з утворенням АДФ або АМФ та інактивацію реакцій протилежного характеру. Зменшення ж енергетичного заряду, навпаки, супроводжується активацією синтезу АТФ та інактивацією розпаду [63, 136, 137].

В.П. Скулачов встановив, що величина енергетичного заряду підтримується на постійному рівні завдяки збереженню рівноваги між АТФ, АДФ й АМФ [122]. Синтез АТФ інгібується високим зарядом, тоді як використання АТФ стимулюється таким же зарядом. Розраховується (ЕЗ) за формулою: $(\text{АТФ} + 1/2 \times \text{АДФ}) / (\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ})$ [122, 123, 137]. Якщо компоненти аденілатної системи присутні в клітині у рівних кількостях, тобто $[\text{АТФ}] = [\text{АДФ}] = [\text{АМФ}]$, то $\text{ЕЗ} = 0,5$. Встановлено, що більшість клітини мають ЕЗ в діапазоні від 0,7 до 0,9, що свідчить про вищий вміст АТФ, ніж АДФ або АМФ [122, 133]. Важливо відзначити, що стабільність ЕЗ і гомеостазу за несприятливих умов забезпечується ключовими ферментами катаболічних і анаболічних шляхів.

Енергетичний потенціал клітини (ЕП) = $\text{ЕП} = \text{АТФ} / \text{АДФ}$. Цей показник свідчить, у певній мірі, про швидкість мітохондріального дихання в тканинах організму [97, 123, 137]. Значення цього показника великою мірою залежить від розчиненого у воді кисню та рН середовища, та показує інтенсивність засвоєння енергії.

Процес синтезу АТФ залежить від енергетичного статусу клітини, який, у свою чергу знаходить своє вираження у кількісному співвідношенні АТФ/АДФ. При зростанні потреб клітини в енергії підвищується концентрація АДФ і

значення цього співвідношення знижується. Це супроводжується активацією тканинного дихання і, відповідно, окислювального фосфорилування [137, 138].

Встановлено, що швидкість дихання знижується до нуля, коли вся АДФ перетворюється в АТФ [112, 139, 140]. У риб такі зміни спостерігаються при посиленому утворенні енергії за стресових умов. Цей показник відрізняється високою точністю і швидко реагує навіть на невеликі зміни концентрацій АТФ та АДФ. Незначне підвищення концентрації АДФ призводить до активації дихання та фосфорилування. Зниження синтезу АТФ у тканинах риб призводить до розвитку гіпоенергетичного стану в їх організмі [40, 97, 114, 141].

Термодинамічний контроль дихання (ТДК) – це показник, що вказує на залежність швидкості дихання не від концентрації окремих компонентів аденілнуклеотидної системи, а від стану фосфорилування [123]. Обернено до енергетичного потенціалу, інтенсивність дихання підвищується при зменшенні значення ТДК. Розраховується ТДК за формулою: $(ТДК) = (АДФ/АМФ)$ [69].

Коефіцієнт порівняння (КП) $= ((АТФ+АМФ)/АДФ)$ [123]. Цей критерій показує співвідношення прямої і зворотної реакції перетворення АДФ. Величина цього коефіцієнту свідчить про розвиток дисбалансу в аденілатній системі, адже напряду залежить як від кількості високоенергетичного фосфату (АТФ) так і від вмісту низькоенергетичного фосфату (АМФ) [138, 139]. В результаті чисельних досліджень було встановлено, що із підвищенням температури у тканинах риб спостерігається порушення прямої реакції перетворення АДФ, що протікає з перевагою синтезу АТФ над його розпадом [38].

Не менш важливим при дослідженні біоенергетичного стану організму є значення індексу фосфорилування (ІФ) [123]. Особлива увага приділяється аналізу динаміки цього показника, оскільки він визначає здатність клітини синтезувати АТФ із АДФ і неорганічного фосфору. Також цей показник є співвідношення «діючих мас», вказуючи на інтенсивність фосфорилування [137, 138, 139].

Для більш глибокого розуміння біоенергетичних процесів у тканинах риб, використовують значення сумарного вмісту аденілатів, а також їх відсоткове співвідношення.

1.4. Нейрогуморальна складова механізму регулювання енергетичного обміну у риб

У природі відбуваються певні зміни, спричинені впливом абіотичних та антропогенних чинників, які нерозривно поєднані з гуморальною регуляцією у риб. Важливу роль в адаптації гідробіонтів до дії несприятливих екологічних чинників відіграє гормональна система, яка за нагальної необхідності однією з перших запускає ланцюг адаптивних реакцій, що сприяють розвитку стрес-реакцій та відновленню енергетичного гомеостазу організму [142, 143].

Відомо, що своєчасність розвитку адаптивних реакцій риб на біохімічному рівні, у першу чергу, відбувається за рахунок ендокринної регуляції обміну речовин [8, 144]. У процесі адаптації риб до змін чинників середовища важлива роль належить нейрогуморальним процесам регуляції обміну речовин. При цьому відбувається активний синтез гормонів стресу та гормонів, що регулюють енергетичний обмін. Останні ж, у свою чергу, беруть активну участь у процесах енергозабезпечення уражених тканин [145, 146]. Також, деякі абіотичні чинники, зокрема мінералізація води, корегують вміст різних гормонів у риб, зокрема й кортикостероїдних (найчастіше кортизолу) [98, 145].

Механізми пристосування риб до змінних екологічних умов, зокрема температури, напряду пов'язані із довжиною світлового дня. Синхронізація пускових механізмів циркадного ритму, як рухової активності, так і терморегуляції, вірогідно, здійснюється на основі чутливості власне пінеального органу до світла і виробленні кількості мелатоніну – гормону, детермінуючого тип циркадної ритміки. Окрім мелатоніну ще декілька гормонів беруть участь у температурній регуляції водних організмів. Серед

них: норепінефрин (біогенний амін із групи кетохоламінів), дофамін – нейромедіатор, а також гормон, який за хімічною структурою також відноситься до кетохоламінів [147]. В цю ж групу входить і тироксин та трийодтиронін, продуковані тканиною щитоподібної залози, та гормони інтерренальної залози [143, 146].

1.4.1. Роль кортизолу у адаптивних реакціях риб.

Кортизол – кортикостероїдний гормон, який забезпечує адекватну відповідь організму до стресових умов [35, 148]. Також до важливих функцій цього гормону можна віднести стимулювання гліюконеогенезу в печінці, підтримання на постійному рівні концентрацію глюкози в крові, а також пригнічення жировідкладання (оскільки гормон утворюється із холестерину) [146, 149, 150]. Чисельні дослідження показали, що цей стероїд у риб причетний до процесів осморегуляції у солоній воді, оскільки активно утримує натрій в ниркових каналцях [145, 148, 151]. І хоча роль йоноконсервуючого гормону приписують пролактину, оскільки він посилює поглинальну здатність клітин зябер стосовно йонів хлору та натрію, роль кортизолу у згаданих процесах двояка. Його участь в осморегуляції значною мірою залежить від вмісту гормонів гіпофізу і антагоністичної чи синергічної дії стосовно них [92, 96]. На думку [133] перенесення риб із прісної у більш солону воду сприяє посиленій втраті йонів натрію та хлоридів у плазмі крові та посилює споживання води клітинами зябер. Також кортизол бере участь у мобілізації таких енергетичних сполук, як ліпіди та жирні кислоти для підтримання гомеостазу у післястресовий період, з метою відновлення енергетичного балансу [152]. Він здійснює безпосередній вплив на проміжний обмін у реакціях, які розвиваються у відповідь на виникнення стресових умов [153].

Кортизол тісно пов'язаний із тиреоїдними гормонами, оскільки він регулює перетворення тироксину до більш активного трийодтироніну, тим самим активує процеси, спрямовані на зниження дії тих чи інших чинників

[142]. Встановлено, що кортизол у водних тварин, поряд із регуляцією енергетичного обміну, корегує також реакції водно-сольового обміну [7, 35, 96]. Основні функції адаптивні цього кортикостероїду, а саме осморегуляція та підтримання енергетичної рівноваги реалізуються у органах-мішенях його дії – зябрах та печінці [154].

Збільшення кількості мітохондріальних клітин зябрового епітелію також проходить за участі кортизолу. Це відбувається шляхом проліферації та покращує адаптивні можливості організму не лише при зміні параметрів солоності води, але й при токсичному навантаженні на водну екосистему та зміні кисневого режиму [142, 143, 145].

Згідно літературних даних, вміст кортизолу в плазмі крові риб в різні сезони та під впливом різних факторів середовища коливається від 0,7 до 800 нг/дм³, зокрема в коропа від 20 до 434 нг/дм³ [13]. Також, цьому гормону належить важлива роль у регуляції глікогенезу у білих м'язах риб [155, 156]. Відомо, що завдяки мобілізації енергії у вигляді глюкози у відповідь на дію стрес-чинників відбувається адаптація риб на біохімічному рівні, зокрема спостерігається підвищення рівня кортикостероїдних гормонів [35, 148, 155]. У переднерестовий період вміст кортизолу зумовлює підвищення метаболічної активності організму риб, шляхом активного залучення гепатоцитів, що супроводжується підтриманням необхідної кількості енергії для репродуктивної здатності у деяких прісноводних риб [157].

1.4.2. Роль тиреоїдних гормонів у адаптивних реакціях риб

Участь щитоподібної залози (у вигляді фолікул на аорті між серцем і зябрами) у риб у регуляції біохімічних процесів зумовлена біологічною дією йодовмісних гормонів – тироксину (Т4) та трийодтироніну (Т3), що синтезуються з амінокислоти тироксину, яка входить до складу тиреоглобуліну [158., 159]. Причому, встановлено, що трийодтиронін значно активніший, ніж тироксин. Серед основних функцій цих гормонів в організмі риб можна

виокремити регулювання активності багатьох ферментів, обміну деяких гормонів, а також вплив на перетворення метаболітів та мінеральних елементів [147, 96, 99, 160]. Окрім цього встановлено, що тиреоїдині гормони у риб приймають участь у процесах осморегуляції [142, 161]. Тому за їх вмістом часто оцінюють загальний стан метаболізму риб.

Експериментально встановлено, що (Т4) та (Т3), здійснюють безпосередню регуляцію перебігу основних реакцій метаболізму [8, 162]. Окрім цього вони регулюють реакції теплової акліматизації риб [87, 156]. Також, зміну вмісту цих гормонів у плазмі крові риб вважають пристосувальним механізмом, спрямованим на протидію стрес-чиннику [159]. Відомо, що Т4 та Т3 у організмі риб можуть взаємозаміщуватися, оскільки виконують майже ідентичні функції, проте подібне взаємоперетворення у великій мірі залежить від рН води та йонного складу водного середовища. Найактивнішою формою цих гормонів у тканинах є Т3, оскільки йому властива більша спорідненість до гормональних рецепторів у тканинах [141, 145, 147]. Для характеристики вмісту тиреоїдних гормонів у крові більш доцільним є використання сумарної їх кількості – (Т4 (тироксин)+Т3 (трийодтиронін)), як показника адаптивної відповіді риб на дію підвищеної температури.

Вміст ядерних рецепторів тиреоїдних гормонів високий в тканинах, які характеризуються активною відповіддю на їх дію, наприклад, у печінці, та низький у тканинах із слабкою відповіддю, зокрема в селезінці [149, 162]. Також відомо, що біологічна дія гормонів щитоподібної залози у риб полягає у стимулюванні транспорту амінокислот і цукрів у лімфоїдній тканині та активності АТФ-аз у еритроцитах [141, 163]. Також встановлено, що дія цих гормонів реалізується шляхом зв'язування з рецепторами інших компартментів клітини, окрім ядерних. Відомо, що комплекс Т3 з ядерними рецепторами викликає активацію процесу транскрипції, збільшення синтезу певного набору матричних РНК, а також рибосомальної РНК. У результаті підвищується синтез Na^+ , K^+ -АТФ-ази [145, 146, 161, 163].

Тироксин та трийодтиронін в організмі риб стимулюють обмін білків, ліпідів, вуглеводів а також водний та електролітний обміни. Окрім того, встановлено, що тиреоїдні гормони впливають на функціональну активність мітохондрій. Зокрема, Т3 стимулює мітохондріальний синтез білків, внутрішньоклітинний транспорт АДФ, неорганічного фосфору та енергетичних субстратів, а також продукування АТФ [146, 147, 164, 165, 166]. Також тиреоїдні гормони стимулюють синтез багатьох структурних білків, ферментів та гормонів.

Численними авторами було встановлено, що концентрація трийодтироніну у плазмі крові риб коливається від 0,2 нг/мл до 50 нг/мл [75, 142, 167, 168].

Також, експериментально доведено, що при екзогенному введенні тиреоїдних гормонів посилюється ріст та життєздатність у костистих риб [158, 169]. Часто вважається, що токсичний вплив на організм риб спричиняє руйнування тих чи інших залоз, що відображається на рівні циркуляції тироксину та трийодтироніну у плазмі крові. Необхідно сказати, що функції щитовидної залози у риб, також, давно пов'язують із адаптацією до підвищеної температури води [170, 171]. За даними останніх досліджень, зростання вмісту Т4 у корокових риб спостерігається в літній період за підвищення температури води та зростання анаболізму [8, 19, 51, 171]. У свою чергу, найнижчий рівень гормону, у більшості випадків, відмічено в зимовий період та ранньою весною перед нерестом [163].

Оскільки результат дії тиреоїдних гормонів полягає у зростанні швидкості основного обміну, окисненні вуглеводів, жирів, амінокислот, то як результат підвищується споживання кисню тканинами та виділення CO_2 . Механізм процесів, що лежать в основі підвищення тиреоїдними гормонами теплопродукування (калоригенного ефекту), досліджується протягом довгого часу. Раніше вважали, що калоригенний ефект зумовлюється роз'єднанням під дією Т3 процесів тканинного дихання і окиснювального фосфорилування, оскільки гормон підвищує споживання кисню і окиснення субстратів без

відповідного збільшення синтезу АТФ [146]. Але ця точка зору не отримала підтвердження в дослідженнях. Більш вірогідним поясненням підвищення теплопродукції під дією тиреоїдних гормонів вважають збільшення використання АТФ в енергозалежних процесах, зокрема на активне перенесення йонів Na^+ і K^+ . Використання АТФ зумовлює збільшення вмісту АДФ, що стимулює процеси катаболізму білків, жирів, вуглеводів і синтезу АТФ [7, 75, 158, 167, 168, 169]. Підвищений вміст тиреоїдних гормонів викликає одночасну стимуляцію протилежно спрямованих процесів, наприклад ліпогенезу (за рахунок індукції синтезу ферментів ліпогенезу) і ліполізу, синтезу білків і розпаду їх з окисненням амінокислот [143, 145, 170, 171]. У результаті енергія, використана на процеси синтезу, розсіюється внаслідок прискорення катаболізму, що зумовлює підвищення теплопродукції. Враховуючи особливості цих гормонів їх доцільно використовувати для оцінки фізіологічного стану риб, оскільки вони показують загальну активність метаболічних процесів.

1.5. Метаболізм глюкози та глікогену при адаптивних реакціях риб

Відомо, що кількість енергії, що утворюється в процесі енергетичного обміну є визначальною при адаптації гідробіонтів до нетипових умов існування. При цьому, частина енергії використовується рибами відразу, а частина зберігається у вигляді запасних поживних речовин, зокрема у формі глікогену, який накопичується у печінці та м'язах [172, 173, 174]. Глікоген є основним енергетичним джерелом, що використовується різними видами риб за несприятливих умов існування, зокрема при зміні кисневого, температурного чи газового режиму, а також при токсичному забрудненні [156, 175]. Він являє собою розгалужений високомолекулярний полісахарид та є одним із найважливіших показників при оцінюванні обміну речовин.

Встановлено, що коливання екологічних чинників впливає на основний метаболізм глікогену у риб. Його синтез та розпад в основному ініційовані

глікогенсинтазою (ГС) та глікогенфосфорилазою (ГФ), які взаємно регулюються як алостерично, так і шляхом фосфорилування [176, 177]. У процесі обміну глікогену, ГФ має вирішальне значення при утилізації глікогену, тим самим визначаючи форми зберігання глюкози у всіх клітинах риб. При адаптації риб до певного чинника існування запускаються додаткові механізми контролю над метаболізмом глікогену, зокрема це проявляється у тривалості його запасання а також швидкості синтезу [155, 178].

Глюкоза також є одним із найдоступніших енергетичних субстратів в організмі риб. Основним метаболічним шляхом, в результаті якого вона генерується є глюконеогенез [148, 155, 174]. Чисельними дослідженнями було встановлено, що вуглеводи відіграють важливу роль у забезпеченні осморегуляційних процесів у риб [35, 179, 180, 181]. Зокрема це пов'язано із участю останніх у енергетичному метаболізмі. Так, при підвищенні солоності води було зареєстровано інтенсивне споживання глікогену у печінці райдужної форелі [182, 183]. Це свідчить про те, що процеси глікогенезу та глікогенолізу у тканинах риб великою мірою залежні від солоності води, однак докладний механізм протікання цих реакцій все ще незрозумілий. Також цей полімер у малих кількостях може локалізуватись і у інших органах риб, зокрема у м'язах. Це пов'язано із особливостями поведінки риб (рухливості тощо) [184, 185, 186]. Інші дослідження показали, що підвищена температура водного середовища також своєрідно впливає на метаболізм глікогену у риб. Часто це виражається в порушенні його утилізації, що призводить до зменшення рівня глюкози у крові [155, 187].

Окрім вищезгаданих ферментів, синтез глікогену у печінці риб забезпечується також включенням глюкози із крові в глікогенез та глюконеогенезом лактату і амінокислот [188, 189]. Експериментально встановлено, що залежно від умов, які впливають на глікогенез, утворення глікогену може відбуватися двома шляхами. У прямому шляху глюкоза перетворюється в глікоген через координовані дії ГС та ГФ, а в непрямому шляху глюкоза спочатку трансформується до 3-вуглецевих проміжних сполук,

які будуть використовуватися для отримання глікогену [177]. Другий шлях також дозволяє перетворювати негексозні попередники, такі як гліцерин або глюконеогенні амінокислоти на попередники глікогену. Глікоген зберігається в печінці як резерв глюкози. Проте зниження її рівня у крові зумовлює мобілізацію глікогену відповідно до периферичних потреб [119, 178, 184, 187]. Тому, при дослідженні адаптації риб до нетипових умов існування варто враховувати такі фізіологічні показники як вміст глюкози та глікогену. Окрім цього, ці субстрати нерозривно пов'язані із метаболізмом енергії.

Таким чином, було розглянуто фізіолого-біохімічні аспекти пристосування риб до несприятливих умов існування. Проаналізовано особливості механізмів регулювання основних шляхів генерування енергії у тканинах риб за впливу абіотичних та антропогенних чинників. Ознайомлено із роботами інших авторів на подібну тематику та виокремлено досі не вирішені проблеми даного напрямку дослідження.

Однак, враховуючи вищесказане, вплив окремих абіотичних чинників, зокрема підвищеної температури та мінералізації води а також надмірного антропогенного забрудненн водойм на енергозабезпечення тканин риб вивчено не достатньо. Тому метою дослідження було вивчення особливостей енергетичного забезпечення тканин коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.), окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.) в процесі адаптації їх організму до підвищеного температурного режиму водойм, мінерального складу води та її надмірного антропогенного забруднення.

РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика дослідних водойм

2.1.1. Озеро Кирилівське

Оз. Кирилівське (Опечень II) – водойма-приймач стоків міської дренажної системи, що знаходиться в південно-західній частині масиву Оболонь. Його довжина становить 760 м, найбільша ширина – 380 м, площа водного дзеркала – 19 га, об'єм – 2,28 млн.м³, середня глибина – 12 м, а найбільша – 15 м [56].

Із поверхневими стоками з промислових майданчиків, а також з прилеглих територій міської забудови і автошляхів до нього потрапляє велика кількість забруднюючих речовин [3, 31]. Загальна мінералізація у квітні коливалась в межах 520–640 мг/дм³, температура води 12,5–17,2°C, концентрація розчиненого кисню 6,5–10,0 мг/дм³. У липні мінералізація становила 520–573 мг/дм³, температура води коливалась у межах 25,6–28,2°C, концентрація розчиненого кисню – 8,9–16,8 мг/дм³. У жовтні температура води в середньому становила 11,3°C.

За літературними даними оз. Кирилівське за індикаторними показниками сапробності належить до категорії «брудна–дуже брудна», альфа–мезополісапробна, VI–VII категорії якості води [190]. Згідно отриманих даних санепідемстанції та літературних джерел зазначена водойма підлягає антропогенному навантаженню з боку району Куренівки м. Києва через колекторну систему та р. Сирець. Саме вони є транзитними водотоками, які з різною інтенсивністю та залежно від сезону року, активності промислових цехів забруднюють озеро нафтопродуктами, СПАР, важкими металами, пестицидами та ін. [3, 31, 57]. Окрім цього, враховуючи великі глибини озера, а також низький рівень водообміну, відбувається накопичення у нижніх прошарках ґрунту різних сполук, зокрема алюмінію, заліза, мангану, цинку та біогенних елементів [29, 56]. Також необхідно враховувати опосередковану дію окремих сполук на фізіологічний статус водяних тварин. В оз. Кирилівське із

хімічних цехів Куренівської промислової зони надходить значна кількість забруднюючих вод, що містять у своєму складі сульфати, які накопичуються у водоймі. Останні в результаті хімічних перетворень можуть впливати на концентрацію сірководню у придонних шарах води. В окремі роки та сезони концентрація сульфатів може дещо перевищувати ГДК_{рибогосп.} (100-137 мг/дм³) [3].

Дослідження концентрації мангану в озерах системи Опечень показали, що вона значною мірою залежить від кисневого режиму цих водойм. Оскільки зазначені озера глибоководні та ще й з високим рівнем трофності, то для них характерне перенасичення киснем води поверхневого горизонту та його дефіцит і формування анаеробних умов у придонному шарі. Тому високі концентрації мангану характерні для згаданого горизонту, де дефіцит O₂ триває майже протягом усього року. Концентрація нітритів свідчить про процеси розкладу органічних речовин та нітрифікацію, а їх підвищення є індикатором забруднення водойми [56, 191].

Характерною особливістю оз. Кирилівське є нерівномірний розподіл біогенних сполук між верхніми та нижніми шарами водойми. Варто зазначити, що у липні та серпні у процесі інтенсивного розвитку синьо-зелених та нитчастих водоростей, спостерігалось погіршення якості води в озері, що вплинуло на концентрація розчиненого кисню у придонних шарах води, коли він знижувався до 0–0,9 мг/дм³. Аналогічні зміни кисневого режиму, що слугувало причиною появи анаеробних зон у цій водоймі, відмічали у своїх дослідженнях [192]. Також у цьому озері встановлено підвищену концентрацію розчиненого (Zn_{розч}) і завислого (Zn_{зав}) цинку, а саме відповідно 20,6-142,0 і 0,4-28,0 мкг/дм³ [56]. Концентрація лабільної фракції цинку знаходився в межах, що перевищує його ГДК для водойм рибогосподарського призначення (10,0 мкг/дм³).

2.1.2. Озеро Бабине

Оз. Бабине – ізольована водойма, яка фактично не підлягає антропогенному впливу через певну віддаленість від міста. Про наявність у водоймі природних «незайманих» комплексів і високу якість води свідчать дані по фітопланктону, макрофітах, бактеріопланктону та паразитоценозах [3, 60, 190]. Водойма площею 9,5 га, довжиною – 1,7 км, завширшки 35–80 м; середня глибина – 2 м, максимальна – 5 м. Водойма суцільно заростає надводною та підводною рослинністю, що, у значній мірі, може опосередковано визначати гідрохімічний та гідробіологічний режими водойми [192]. Загальна мінералізація води у квітні становила 250 мг/дм³, температура води коливалась у межах 10–13°C, вміст розчиненого кисню становив 8–12 мг/дм³, у липні – 281,2 мг/дм³, 22,1–24,0°C, 8–11 мг/дм³. У жовтні температура сягала 10,12°C, концентрація розчиненого кисню становив – 8,05 мг/дм³. За індикаторами сапробності вода озера відноситься до категорії «чиста–достатньо чиста», альфа-оліго-бета-мезосапробна зона, I–III категорії [3]. Варто зазначити, що концентрація низки біогенних сполук, зокрема амонійного і нітратного азоту в поверхневому і придонному шарах води озера, змінюється в допустимих межах і не досягає значних величин. Їх концентрація характеризується рівномірним розподілом по акваторії та глибині. Незначна концентрація біогенних сполук у водоймі, вочевидь, первинно пов'язана із асиміляцією продуцентами, зокрема макрофітами та фітобентосом [192]. За результатами чисельних досліджень, проведених на оз. Бабиному, встановлено, що за гідрохімічними та мікробіологічними показниками водойма не зазнає помітного антропогенного впливу.

2.2. Методи проведення модельних експериментів

Модельний експеримент щодо дослідження впливу підвищеної температури на організм риб проведено у червні місяці на дворічках коропа звичайного *Cyprinus carpio* L., окуня річкового *Perca fluviatilis* L. та плітки звичайної *Rutilus rutilus* L. на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Риб поміщали в експериментальні акваріуми об'ємом 75 дм³, наповнені водою із р. Рось, яка змінювалась 1 раз на 3 доби, та облаштовані системою нагрівання та аерації. Умови були наступні: 5 експериментальних акваріумів, у яких вода протягом дня поступово нагрівалася до 26°C, 28°C, 30°C та максимальної температури 34°C, а на ніч нагрівачі вимикались, що призводило до зниження температури води у кожному акваріумі на 2°C, 4°C, 6°C та 7–8°C відповідно. Контролем слугував акваріум із температурою 24°C, у якому цей параметр підтримувався постійно (без коливань). Концентрація розчиненого у воді кисню підтримувався в межах $5,5 \pm 0,9$ мг/дм³ (з підвищенням температури вміст кисню у воді дещо знижувався), рН – $7,0 \pm 0,2$. Період аклімації риб становив 14 діб, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на дію стрес-чинника. Окуня під час експерименту годували мальком чебачка амурського та хірономідами, а коропа та плітку – комбікормом.

Дослідження впливу підвищеної мінералізації води на організм риб проводили на вищезгаданих видах також на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Риб поміщали в експериментальні акваріуми об'ємом 75 дм³. Різний ступінь мінералізації, а саме 1040 мг/дм³, 1560 мг/дм³ та 2080 мг/дм³ отримували за рахунок внесення у воду з р. Рось, мінералізація якої становила 520 мг/дм³, відповідної кількості солей, до складу яких входять йони елементів, частка яких є найбільшою у визначенні мінералізації водойми. Такими солями були CaCl_2 , MgSO_4 , KI та гідрокарбонат натрію NaHCO_3 . Контролем слугував акваріум із річковою водою. Період аклімації риб становив також 14 діб.

2.3. Іхтіологічні методи досліджень

Ловлю риб здійснювали вудковими та спінінговими знаряддями лову за загальноприйнятими в іхтіології методами. Необхідну кількість риб (по 25–30 екз. кожного виду для модельних експериментів, та по 5–7 екз. із кожної дослідної водойми відбирали для проведення біохімічних досліджень. Кров із серця отримували за допомогою пастерівської голки та гепаринізованого шприца, в подальшому її центрифугували для виділення плазми та зберігали в морозильній камері при -18°C . Для досліджень, крім плазми крові, відбирали інші тканини (зябра, печінку та м'язи). Їх також заморожували і зберігали для подальших біохімічних досліджень за температури -18°C .

2.4. Гідрохімічні методи досліджень

На дослідних водоймах під час лову риб та у експериментальних акваріумах проводили вимір концентрації розчиненого кисню у воді методом Вінклера [193], водневого показника (pH) за допомогою pH-метра PH-009 (1), загальної мінералізації води – TDS-метра IDS-2, температури – ртутним лабораторним термометром із ціною поділки $0,1^{\circ}\text{C}$. Концентрація окремих йонів, токсичних сполук у воді було взято з літературних джерел та даних санепідемстанції. Вміст металів (Zn, Cd, Pb, Co, Ni, Fe, Mn, Mg, Ca, Na, K, Cu) у дослідних водоймах вимірювали після концентрування відібраних зразків води шляхом кип'ятіння на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 із використанням відповідних стандартів.

2.5. Біохімічні методи дослідження

Визначення вмісту АТФ, АДФ та АМФ у тканинах відповідних органів риб проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на

силікагелевих пластинках «Sorbfil» з використанням системи розчинників: 1,4-діоксан, ізопропанол, аміак, вода у співвідношенні (4:2:1:4) [194].

Наважку кожного органу ($0,50 \pm 0,05$ г) змішували з рівним об'ємом 0,6 Н тетрахлорної кислоти. Далі суміш центрифугували при 4000 об./хв протягом 10 хв і відбирали 0,5 мл супернатанту. Останній нейтралізували змішуванням з 0,06 мл 2М розчину K_2CO_3 . Прозорий надосадовий розчин наносили в кількості 0,03 мл на пластинку для хроматографії. Хроматографію проводили протягом 60–90 хв. Плями нуклеотидів детектували під ультрафіолетовим світлом та елюювали їх із пластин 3 мл 0,1Н соляної кислоти протягом 30 хв. Елюат спектрофотометрували при $\lambda = 260$ нм.

Показники, що характеризують стан енергетичного обміну розраховували за формулами: аденілатний енергетичний заряд (ЕЗ) – $EZ = (ATP + 1/2 ADP) / (ATP + ADP + AMP)$; енергетичний потенціал (ЕП) – $EP = ATP / ADP$; індекс фосфорилювання (ІФ) за співвідношенням $(ATP / ADP + P_n)$; термодинамічний контроль дихання (ТДК) – (ADP / AMP) ; коефіцієнт порівняння (КП) – $((ATP + AMP) / ADP)$ [122]. Також розраховували відсоткове співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб. Кількість неорганічного фосфору визначали за методом *Фіске – Субароу* [195].

АТФ-азну активність (КФ 3.6.3.9) у мембранах печінки, зябер та м'язів визначали за наростанням неорганічного фосфату [195] в інкубаційному середовищі такого складу: 1 мл 0,05М трис-НСІ-буфера, 0,2 мл 5,0 мМ АТФ (приготовленого на трис буфері), 0,2 мл суміші солей (1М NaCl, 0,2М KCl, 0,05М $MgCl_2 \cdot 6H_2O$), 0,1 мл дистильованої води та 0,2 мл гомогенату тканини. Час інкубації суміші становив 60 хв за температури 25°C. Для зупинення реакції додавали 1 мл 10% ТХОК (трихлороцтової кислоти) та центрифугували при 3000 g протягом 10 хв. Для визначення вмісту неорганічного фосфату відбирали 0,1 мл центрифугату, до нього додавали 3 мл етилового спирту (96%) та 0,4 мл молібдату амонію у 8 н сірчаній кислоті. Фотометрували при довжині хвилі 390 нм (ультрафіолетовий спектр). Розраховували активність ферменту за формулою: $x = D_{\text{фосфору}} \times 60 / \text{білок в } 0,1 \text{ мл та виражали у нМоль/мг} \cdot \text{хв}$.

Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) (КФ 1.3.5.1) встановлювали стандартним методом за кількістю відновленого гексаціаноферату (III) калію [196] в інкубаційному середовищі такого складу: 1 мл 0,1М фосфатного буферу ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ (рН 7,8)), 0,1 мл 0,1М бурштинової кислоти, 0,1 мл 25мМ ЕДТА, 0,1 мл 150мМ азиду натрію, 0,1 мл дистильованої води та 0,2 мл гомогенату тканини. Час інкубації суміші становив 15 хв за кімнатної температури. Після інкубації додавали 0,1 мл 25мМ фериціаніду калію та інкубували 15 хв при температурі 25°C. Для зупинення реакції додавали 2 мл 20% розчину ТХОК та центрифугували при 2000 g протягом 15 хв. Для визначення кількості відновленого гексаціаноферату (III) калію фотометрували проти суміші 20% ТХОК та фосфатного буферу при довжині хвилі 420 нм. Активність ферменту встановлювали 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. Виражали у нМоль/мг*хв.

Активність цитохромоксидази (ЦО) (КФ 1.9.3.1) визначали за методом, описаним Р.С. Кривченковою [197] в інкубаційному середовищі такого складу: 0,2 мл гомогенату тканини в 0,01М К-Na-фосфатному буферному розчині (рН-7,4), 0,2 мл 0,04%-водного розчину цитохрому С та доводили дистильованою водою до 1 мл. Інкубували при 25°C протягом 2 хв. Після цього додавали 0,1 мл 0,4% розчину *N, N*-Диметил-*p*-фенілендіаміну. Інкубували 3 хв до появи червоного забарвлення. Після інкубації проби екстрагували забарвлення 4-кратним об'ємом суміші етилового спирту та тетрахлоретилену (3:1). Доводили до рН 6 розведеною HCl . Осад відділяли шляхом центрифугування при 5000 g протягом 15 хв. Прозорий забарвлений супернатант пастерівською піпеткою переносили в сухі пробірки та фотометрували проти екстрагуючої суміші при довжині хвилі 510 нм. Для визначення активності ферменту будували калібрувальний графік за наступним принципом: у 4 ряди пробірок вносили від 0,1 до 0,9 мл 0,02% розчину біхромату калію, 1 мл 0,01М К-Na-фосфатного буферу та доводили об'єм до 4 мл дистильованою водою. В перший ряд пробірок вносили по 0,15 мл 0,01% розчин *N, N*-Диметил-*p*-фенілендіаміну, в

другий – по 0,20 мл, в третій – по 0,25 мл та в четвертий по 0,30 мл. Екстрагували 4 мл суміші етилового спирту та тетрахлоретилену та через 5 хв вимірювали оптичну щільність проб при довжині хвилі 510 нм. Виразали у нМоль/мг×хв.

Загальний вміст тироксину (Т4), трийодтироніну (Т3) та кортизолу у плазмі крові риб визначали імуноферментним методом, використовуючи комерційні набори Т3–ІФА, Т4–ІФА (НВЛ Гранум, Україна) та «ДС-ІФА-Стероїд-Кортизол» (НВО «Діагностичні системи», Росія) з допомогою ІФА-аналізатору Rayto RT-2100С. Вміст глюкози встановлювали спектрофотометрично глюкозооксидазним методом з використанням стандартних комерційних наборів «Глюкоза-Ф» («Філісіт-Діагностика», Україна), вміст глікогену – прямим антроновим методом [195]. Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) (КФ 1.1.1.27) визначали також з використанням стандартних комерційних наборів «Філісіт-Діагностика», Україна. Вміст загальних білків у тканинах встановлювали за Лоурі [198].

Статистичну обробку даних проводили з використанням програм Statistica 10.0 та програми Excel із пакету Microsoft Office.

РОЗДІЛ 3 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ ВОДИ

У процесі еволюції у водяних тварин сформувались певні пристосувальні механізми, які компенсують порушення метаболізму, викликані коливаннями температури середовища існування. Зазначені механізми нерозривно пов'язані з процесами генерування енергії, в основному із гліколізом та циклом трикарбонових кислот. Варто відмітити, що функціональний стан основних шляхів генерування енергії в тканинах риб за зміни температури води часто описували за температурною залежністю окремих ферментів [139]. Проте відповідні дослідження дають змогу говорити лише про відповідні реакції, які каталізують ці ферменти. Для глибшого розуміння температурної залежності метаболізму риб важливо вивчати також вміст тиреоїдних гормонів та глюкози у плазмі їх крові, а також концентрацію основних енергетичних речовин у тканинах, зокрема аденілатів. Ці критерії дозволяють більш глибше вивчати стан метаболізму в організмі риб, що є важливим для розуміння механізмів енергозабезпечення їх адаптації до екологічних чинників, в тому числі й до температури.

3.1. Біохімічні показники плазми крові риб за дії підвищеної температури води

3.1.1. Гормональна регуляція процесів енергетичного обміну у риб

Відомо, що своєчасність розвитку адаптивних реакцій риб на біохімічному рівні, у першу чергу, відбувається за рахунок ендокринної регуляції обміну речовин [19, 63, 143]. У процесі пристосування риб до змін чинників середовища важлива роль належить нейрогуморальним процесам регуляції обміну речовин. При цьому відбувається активний синтез гормонів, що регулюють енергетичний обмін, а також гормонів стресу. Перші ж, у свою чергу, беруть активну участь у процесах енергозабезпечення уражених тканин.

В результаті наших досліджень встановлено, що за температури води 26°C спостерігався найвищий вміст тироксину та трийодтироніну у плазмі крові окуня, який переважав контроль у 1,63 та 2,03 раза відповідно (рис. 3.1). При цьому вміст тироксину у плазмі крові був суттєво більшим, ніж трийодтироніну (7,0 нМоль/дм³ тироксину проти 1,01 нМоль/дм³ трийодтироніну у контролі). При подальшому підвищенні температури води вміст обох гормонів поступово знижувався, але відмітки нижче контролю не досягнув. При максимальній температурі 34°C концентрація Т4 та Т3 були у 1,03 та 1,62 раза відповідно вищою за контроль. Сумарний вміст (Т3+Т4) зберігає описані вище закономірності (рис. 3.4).

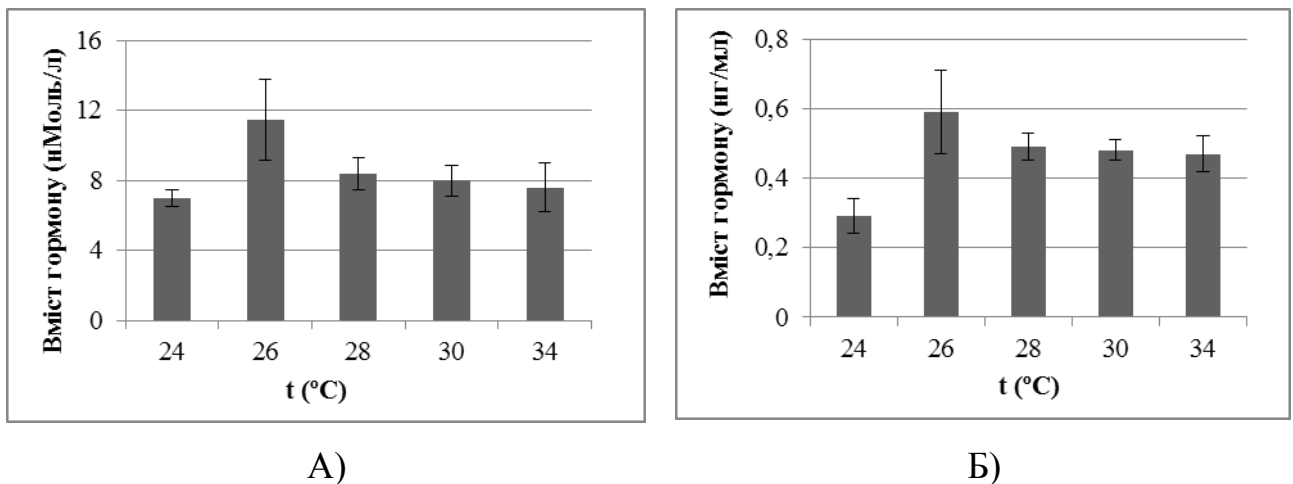


Рис. 3.1. Вміст тироксину (А) та трийодтироніну (Б) у плазмі крові окуня за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$).

Як правило, при підвищенні температури зростає інтенсивність метаболічних процесів [13, 14, 41]. Проте, за тривалої дії високих температур організм виснажується, що проявляється у такому випадку у затраті більшої кількості енергії. Можна припустити, що в таких несприятливих умовах вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові окуня свідчить про пришвидшення енерговитрат в організмі риб спочатку та їх уповільнення в подальшому при підвищенні температури, а також своєрідну перебудову їх метаболізму в бік сповільнення катаболічних реакцій у тканинах [24, 48].

Окрім цього, відомо, що взаємоперетворення тироксину та трийодтироніну у великій мірі залежить від температури і рН середовища [40]. Тому можна вважати, що отримане співвідношення вмісту вищезгаданих гормонів спричинене підвищенням температури. Також такі фізіологічні зміни можуть виступати механізмом адаптації риб до несприятливого чинника подібної природи [19, 199].

Щодо коропа, то показники гормонального фону дещо відрізняються від окуня (рис. 3.2). Це, зокрема, може бути пов'язано з різним таксономічним статусом цих видів, що, вочевидь, зумовлено відмінностями у метаболізмі. Оскільки ці два види займають різні екологічні ніші, то й і функціонування гормональної системи у них також різне.

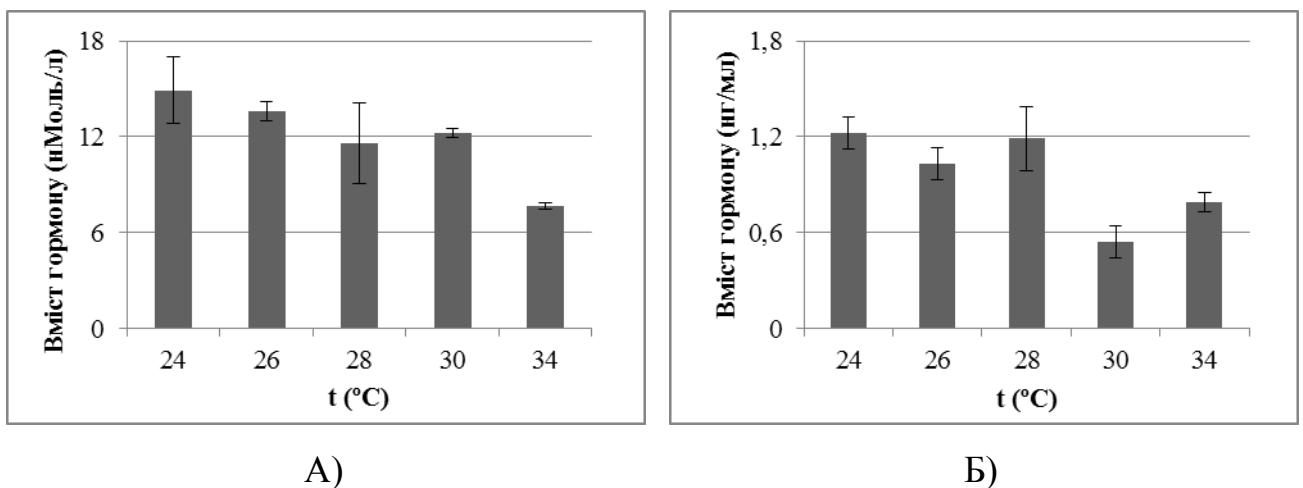


Рис. 3.2. Вміст тироксину (А) та трийодтироніну (Б) у плазмі крові коропа за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$).

Відмічено поступове зменшення вмісту тироксину та трийодтироніну у крові коропа починаючи із 26°C – у 1,09 та 1,1 раза відповідно відносно контролю, та закінчуючи максимальною температурою 34°C – у 1,93 та 1,5 раза менше відносно контрольної величини (рис. 3.2). Вміст тироксину також був вищим, ніж трийодтироніну (14,9 нМоль/дм³ проти 4,23 нМоль/дм³). Сумарний вміст (Т4+Т3), як і в окуня, повторює цю закономірність (рис. 3.4).

Можна припустити, що причиною таких змін слугує також сповільнення катаболічних процесів в організмі коропа, яке набагато інтенсивніше, ніж у

окуня, тобто без попереднього зростання величини зазначених показників. Такі фізіологічні перебудови можуть супроводжуватися зменшенням генерування енергії внаслідок зниження активності окисно-відновних реакцій [20, 40]. На відміну від окуня, у якого з підвищенням температури води до 28 та 34°C вміст гормонів був майже на одному рівні, у коропа виявлено коливальний характер зміни величини цих показників. Це, вочевидь, може бути зумовлено різним ступенем споживання кисню тканинами за нетипових температурних умов.

Також встановлено, що зниження вмісту тиреоїдних гормонів великою мірою впливає на ферментативну активність дихального ланцюга, а саме зумовлює його активацію [112, 141]. Проте, тривала дія несприятливого чинника в подальшому може спричинити реорганізацію співвідношення між генеруванням енергії та її затратою і, як результат, загибель організму [13].

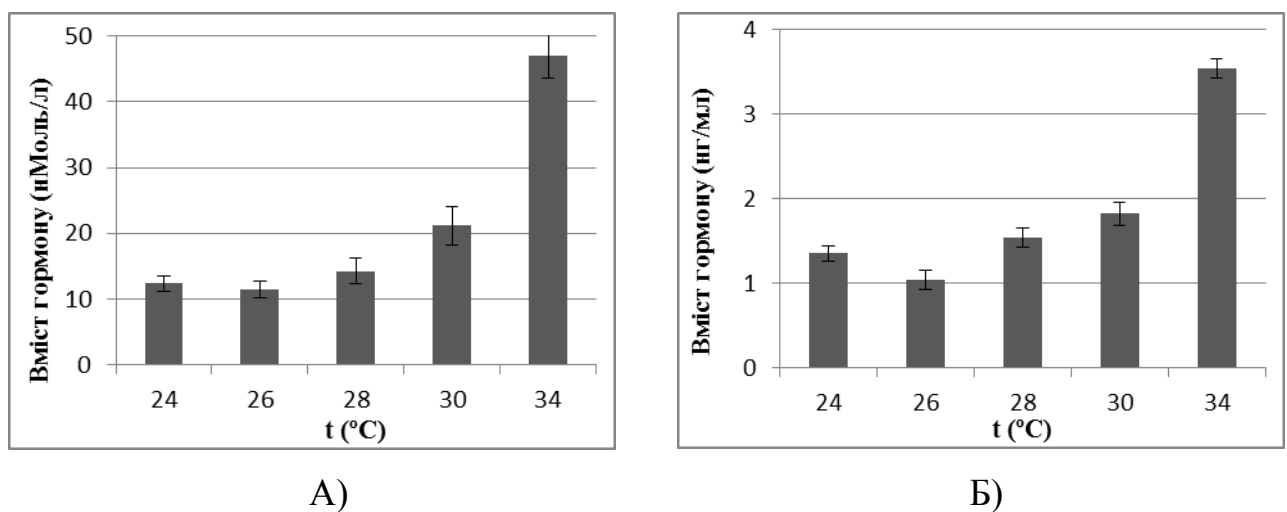


Рис. 3.3. Вміст тироксину (А) та трийодтироніну (Б) у плазмі крові плітки за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо плітки, то із зростанням температури зафіксовано чітку тенденцію до збільшення концентрації тиреоїдних гормонів. Так за температури 34°C вміст тироксину та трийодтироніну у плазмі крові плітки був у 3,79 та 2,62 рази відповідно вищим відносно контролю (рис. 3.3). Отримана закономірність є протилежною щодо величин цих показників у коропа та окуня. Це може вказувати на підвищену потребу організму плітки у енергії для забезпечення

нормального функціонування за подібних умов. Також пропорційне підвищення вмісту Т4 та Т3 вказує на пригнічення взаємоконвертування цих гормонів. Не виключено, що наслідком таких змін також може бути інактивації дихального ланцюга у мітохондріях, що ускладнює механізми нівелювання дії підвищеної температури води, а також подолання гіпоксичного стану тканин [112].

Сумарний вміст Т4+Т3 у плазмі крові плітки також якісно відрізняється від двох інших видів у бік зростання величини показника (рис. 3.4).

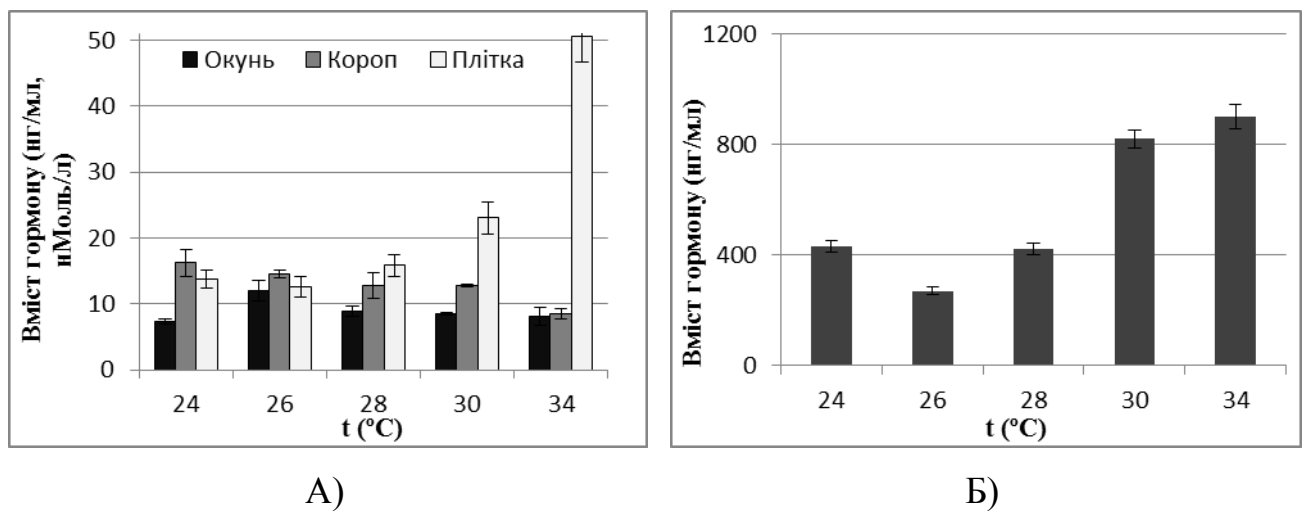


Рис. 3.4. Сумарний вміст Т4+Т3 у плазмі крові риб (А) та вміст кортизолу (Б) у плазмі крові плітки за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$)

Варто відмітити, що відповідний вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові плітки може вказувати на розвиток стресу в її організмі. Для дослідження цього факту ми визначили також вміст кортизолу у плазмі її крові, який разом із рівнем глюкози є надійним показником стресу. Встановлено, що концентрація цього гормону за максимальної температури (34°C) становила 900 нг/мл, що у 2,08 раза вище за контрольну величину (рис. 3.4). Очевидно, що в організмі плітки розвивається стрес реакція, що супроводжується мобілізацією енергетичних ресурсів [148]. Це дозволяє їй заощаджувати енергетичні запаси, та дає змогу повернути організм у стан гомеостазу після дії стрес-агента. Тому,

з отриманих даних ми дійшли висновку, що плітка менш резистентна до дії підвищеної температури води, ніж окунь та короп.

3.1.2. Концентрація глюкози в плазмі крові риб за дії підвищеної температури води.

Вуглеводи є одними із найдоступніших і найлабільніших субстратів енергетичного обміну, зокрема це стосується глюкози. Інтенсивність проходження реакцій, пов'язаних із утворенням чи затратою енергії, напряду залежить від вмісту глюкози у крові [148]. Також відповідний її рівень свідчить про наявність змін у тих чи інших обмінних процесах, а також про розвиток адаптивних компенсаторних механізмів на протидію різним несприятливим чинникам [19, 49, 55]. Проте, її утворення та засвоєння часто регулюється різними шляхами.

Встановлено, що за температури з концентрація глюкози у плазмі крові окуня та коропа збільшувався відносно контролю у 2,08 та 1,57 раза відповідно. Проте, при подальшому зростанні температури обидва види реагували різним чином. У окуня, починаючи із 28°C і до 34°C вміст глюкози почав поступово знижуватися, але залишився в межах від 1,52 до 1,48 раза вищим відносно контролю (рис. 3.5).

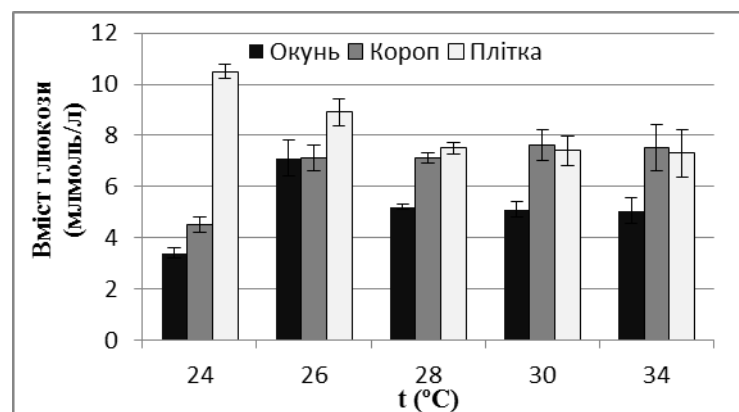


Рис. 3.5. Вміст глюкози у плазмі крові риб за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$).

Такі зміни можуть бути зумовлені поступовим збільшенням середньодобового коливання температури, яка максимально сягала 8–10°C. За

таких умов окунь повністю переставав живитися, що і могло призвести до поступового зниження вмісту глюкози. Активність окремих ферментів енергетичного обміну вірогідно знижується за таких умов, всупереч підвищенню температури [20, 41], що зумовлено виснаженням організму, а також тривалою гіпоксією. Іншими словами, тривала дія несприятливого чинника може призвести до зміни балансу між утворенням глюкози та її утилізацією і, як наслідок, до енергетичного голодування та загибелі організму.

У коропа ж спостерігалось поступове незначне підвищення вмісту глюкози відносно контролю у 1,57–1,66 раза (рис. 3.5). Це могло б бути свідченням активного функціонування як гліколізу, так і циклу трикарбонових кислот, тобто проявом пристосувальної реакції, спрямованої на підтримання енергетичного гомеостазу [112]. Однак, вищезазначений рівень гормонального фону у коропа може вказувати на розвиток стрес-реакцій, а тому, вірогідно, в такому стані може активуватися гідроліз глікогену у печінці, що зумовлює підвищення вмісту глюкози [179]. У подальшому, зменшення інтенсивності живлення у коропа та тривала дія стрес-чинника може призвести до утилізації великої кількості глюкози та інгібування процесів енергозабезпечення, нормальне функціонування яких для коропа відбувається за температури 25–28°C [24, 200]. У рибницьких господарствах це значною мірою відобразиться на рибопродуктивності цього виду.

Щодо плітки, то вміст глюкози у плазмі її крові вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався у напрямку зростання температури води, та при 34°C був на рівні 7,3 ммоль/л, що менше за контроль у 1,43 раза (рис. 3.5). Очевидно саме цей субстрат плітка залучає в процесі пристосування до створених умов. Однак тривала дія підвищеної температури води може спричинити зниження вмісту глюкози у крові цього виду до критичного рівня, що буде супроводжуватися негативними наслідками [188]. Не виключено також, що відповідний рівень цього енергетичного субстрату може бути спричинений пригніченням глюконеогенезу в організмі плітки [19, 179, 201]. Оскільки рівень тиреоїдних гормонів вказує на активацію анаболічних процесів в організмі зазначеного

виду, але водночас концентрація глюкози зменшується, то можна стверджувати, що катаболічні процеси в її організмі все ж домінують за згаданих умов. Відповідна реорганізація метаболізму в організмі цього виду спрямована на підтримання нормальної життєдіяльності в ускладнених умовах існування.

3.1.3. Активність ферментів енергетичного обміну у крові риб за дії підвищеної температури води.

Активність ферментів енергетичного обміну, а саме лактатдегідрогенази (ЛДГ) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) є також важливими показниками пристосувальних можливостей різних видів риб [20, 14, 84]. Їх величина добре корелює із описаними вище результатами та пояснює активацію того чи іншого процесу енергозабезпечення. СДГ – важливий фермент циклу трикарбонових кислот, який каталізує реакцію окиснення сукцинату до фумарату [13]. Також, активність цього ферменту у великій мірі залежить від наявності кисню, тому в експериментах активність СДГ є значущою.

Встановлено, що за температури 26°C спостерігається підвищення активності СДГ у окуня, коропа та плітки у 2,41, 1,4 та 1,32 раза відповідно відносно контролю (рис. 3.6). При цьому, загальна активність сукцинатдегідрогенази у плазмі крові окуня була значно нижчою, ніж у коропа та плітки (4,05 нмоль/мг×хв. проти 25,3 та 31,8 нмоль/мг×хв). Зазначене підвищення активності СДГ ймовірно є наслідком активації окиснення сукцинату в умовах поступового підвищення температури, що також підтверджується відповідною активністю тиреоїдних гормонів [42, 171]. Це можна вважати компенсаторним механізмом, що забезпечує підтримання функціональної активності дихального ланцюга та його енергетичної функції на належному рівні в умовах виживання при підвищених температурах [13, 112, 141, 162].

Починаючи із 28°C при наступному підвищенні температури на 2 та 4°C водночас збільшувалося середньодобове коливання температури. Це, очевидно, спричинило в усіх досліджуваних видів риб поступове зниження активності СДГ. У плазмі крові окуня та коропа у напрямку підвищення температури 28-34°C зафіксовано стрімку тенденцію до зниження активності ферменту (рис. 3.6), що дозволяє спрогнозувати негативні наслідки тривалої дії відповідного чинника на організм цих видів. У плітки ж за максимальної температури активність СДГ була нижчою за контроль у 4,06 раза.

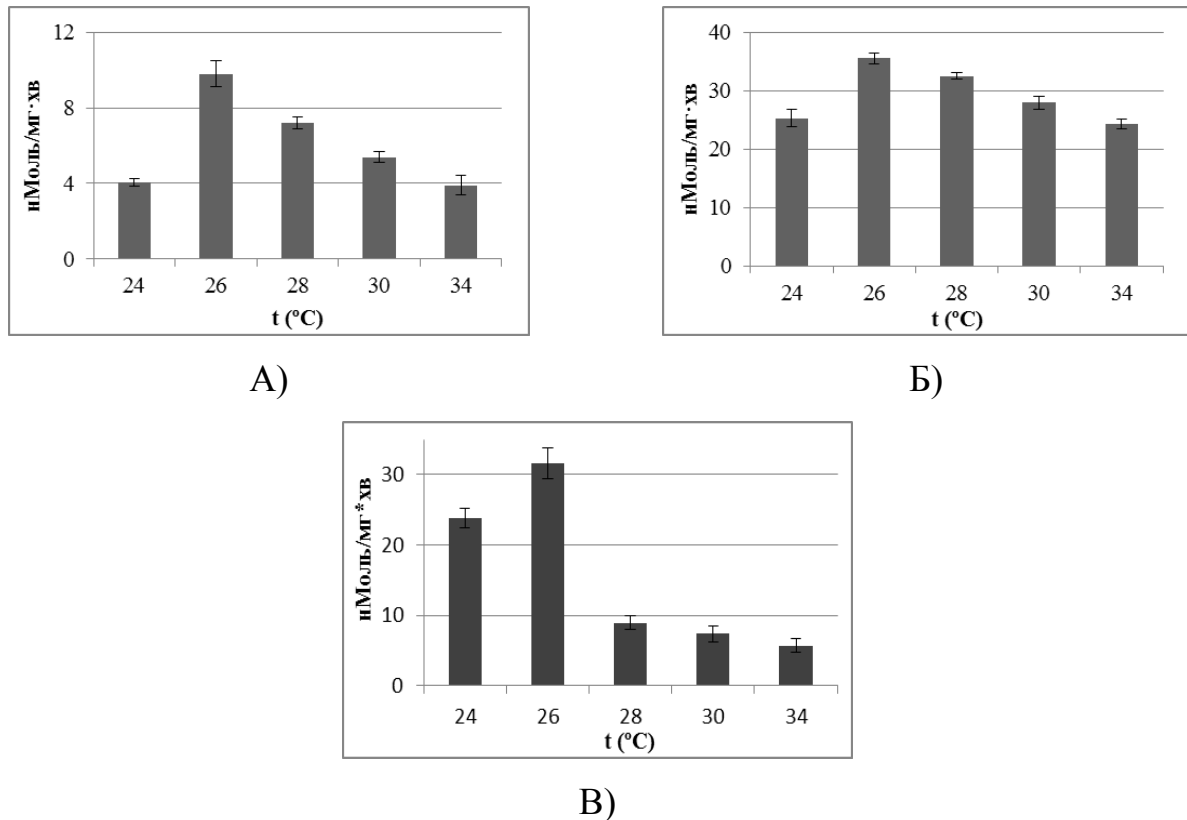


Рис. 3.6. Активність сукцинатдегідрогенази у плазмі крові окуня (А), коропа (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$).

Відповідна закономірність у плітки може свідчити про стрімке пригнічення функціонування циклу трикарбонових кислот, а також про інактивацію процесів дихального ланцюга [112, 148]. Очевидно, що цей вид набагато складніше переносить дії температури води, яка виходить за межі його зони толерантності. Окрім цього, отриманні дані разом із величинами вмісту глюкози та кортизолу у плазмі крові плітки ще раз підтверджують розвиток у її

організмі стресового стану [148, 155]. Із отриманих даних видно, що для подолання цього явища та компенсації енергетичних витрат організм плітки залучає низку енергетичних субстратів та компенсаторних механізмів, однак інгібуючи дія високої температури викликає стан втоми у цього виду та може спричинити летальні наслідки.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) – важливий фермент обміну глюкози, який каталізує реакцію перетворення піровиноградної кислоти в молочну [14, 84]. Щодо активності ЛДГ, то вона, у великій мірі, піддається гормональному впливу. Великий рівень тироксину знижує синтез ферменту, точніше окремих його ізоформ [84, 82, 83, 89]. Було відмічено, що більшою мірою такі зміни відбуваються при адаптації організму до несприятливих умов, зокрема температури та мінералізації [3, 23].

Встановлено, що за температури 26°C спостерігається зростання активності ЛДГ у плазмі крові окуня, коропа та плітки відносно контролю у 1,43, 1,21 та 1,40 раза відповідно, що свідчить про переважання анаеробного шляху розщеплення глюкози над аеробними процесами (рис. 3.7). Також це добре корелює із правилом про підвищення ферментативної активності з підвищенням температури [14, 88].

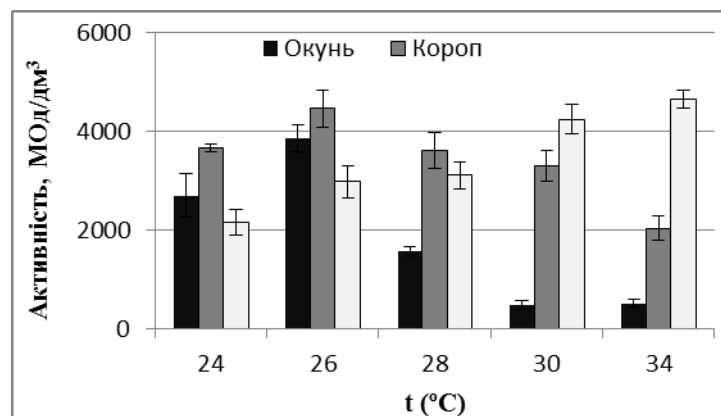


Рис. 3.7. Активність лактатдегідрогенази у плазмі крові риб за дії підвищеної температури води ($M \pm m$, $n=5$).

Проте в подальшому у напрямку зростання температури активність цього ферменту в усіх досліджуваних видів риб змінювалась різним чином. В окуня в діапазоні температури 28°C–34°C, активність ЛДГ стрімко знижувалась і

мінімальної та критичної величини набула при 30°C – 496 Мод/дм³, що менше за контроль в 5,40 раза (рис. 3.7).

Суттєве зниження активності ферменту в окуня свідчить про пригнічення гліколітичних процесів. Також, з огляду на те, що активність СДГ у плазмі крові цього виду також знижується, то можна стверджувати про пригнічення і циклу Кребса та переважання катаболічних реакцій в його організмі над анаболічними. Це підтверджує і вміст глюкози, який практично не збільшується зі зростанням температури [179]. Також зазначені процеси підтверджуються зміною вмісту гормонів щитоподібної залози. За таких умов пригнічуються всі основні шляхи генерування енергії в його організмі, що надалі призведе до надмірного виснаження та загибелі.

У коропа спостерігається подібна закономірність, проте активність ферменту зменшується не так стрімко. Мінімальна активність ЛДГ у плазмі крові коропа була при 34°C – 2043 Мод/дм³, що є в 1,79 раза менше за контроль (рис. 3.7). Такі зміни можуть свідчити про те, що короп більш витривалий вид до дії подібних екстремальних температур, проте безпосередній вплив цього чинника на його метаболізм за згаданих умов все ж відчутний.

Варто відмітити, що у плазмі крові плітки активність ЛДГ стрімко зростала в напрямку підвищення температури, та при 34°C була вищою за контроль у 2,28 раза (рис. 3.7). Очевидно, що організм плітки інтенсивно активує утворення лактату із пірувату [13]. Проте враховуючи величини інших вищеописаних показників, можна дійти висновку, що це адаптивна стресова реакція організму плітки, спрямована на підтримання життєдіяльності. За таких умов плітка повністю перестала жити, а отже енергетичних запасів їй не вистачить щоб довго протидіяти цьому чиннику.

Отже, за підвищення температури води вище зони толерантності досліджуваних видів риб, нормальне функціонування енергетичного обміну в їх організмі погіршується та при тривалій дії чинника призводить до енергетичного голодування. У коропа зниження величини цих показників не настільки критичне ніж у інших двох видів, проте подібний чинник все ж

зумовлює специфічне протікання метаболічних процесів в його організмі, що в подальшому також призведе до негативних наслідків.

3.2. Ферментативна активність тканин риб в умовах підвищеної температури води.

Активність ферментів енергетичного обміну (лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази) у тканинах риб також великою мірою залежить від змін температури води та є важливими показниками термоадаптації риб [12, 14, 200]. Окрім цього важливу роль у процесах аклімації риб до підвищеного температурного режиму водойми відіграє К, Na-залежна АТФ-аза – фермент із групи транспортних аденозинтрифосфатаз [82, 90, 91].

Той факт, що ферменти є гетерогенними та кожен ізофермент показує характер протікання реакцій в певному конкретному органі, може бути одним із механізмів, який пойкилотермні тварини використовують для компенсації зміни температури [42, 65]. Тому важливим є вивчення і порівняння активності ферментів, що каталізують реакції у різних органах, зокрема у м'язах та зябрах.

В результаті дослідження встановлено, що у коропа із підвищенням температури води від 24°C до 34°C відбувається поступове незначне збільшення АТФ-азної активності у м'язах, що за максимальної температури сягнуло показника, який на 26% вищий від контрольної величини (рис. 3.8).

У зябрах можна відзначити практично зворотну закономірність – за температури 26°C активність ферменту спочатку стрімко зросла у 1,71 раза щодо контролю, а потім поступово знижувалася та за температури 34°C зменшилася порівняно з контролем у 1,64 раза (рис. 3.8). Виявлена закономірність у м'язах коропа може свідчити про те, що із підвищенням температури для забезпечення енантіостазу організмом риб витрачається більша кількість енергії, яка вивільняється в процесі гідролізу АТФ. Тут безпосередню участь відіграє саме гідролазна АТФ-аза, тому зі зміною

температурного режиму відбуваються відповідні зміни як і в активності цього ферменту, так і в біоенергетиці організму в цілому [5, 90, 98]. У зябрах, вочевидь, температурний чинник стимулював активацію анаболічної гілки метаболізму, що і могло відобразитись на зниженні активності ферменту.

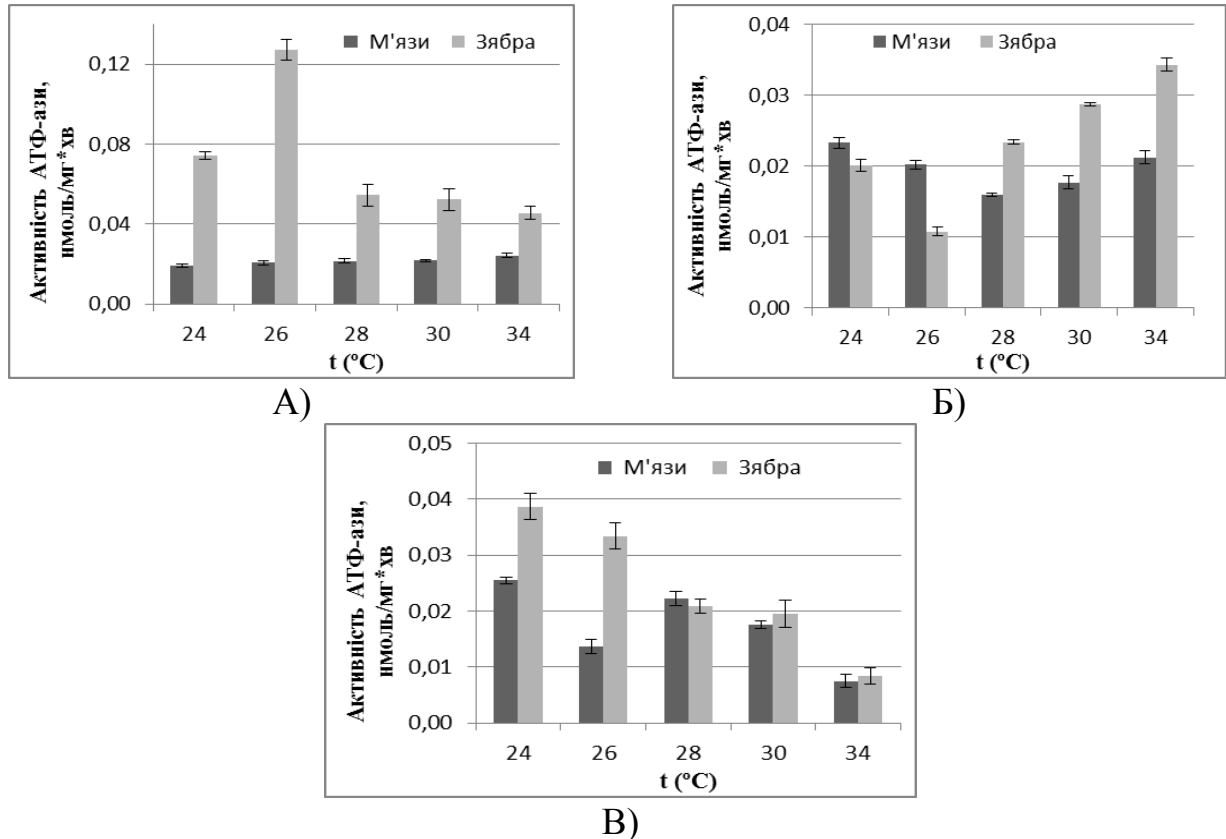


Рис. 3.8. АТФ-азна активність у м'язах та зябрах карпа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

У окуня зміна АТФ-азної активності за згаданих умов має коливальний характер. Спочатку при підвищенні температури на 2 та 4°C активність ферменту у м'язах поступово знижувалася та набула мінімальної величини за температури 28°C (у 1,53 раза меншої щодо контролю) (рис. 3.8). Надалі спостерігалось зростання АТФ-азної активності, яка за максимальної температури становила 0,021 нмоль/мг білка×хв, що у 1,09 раза менше від контролю.

У зябрах окуня активність ферменту за температури 26°C спочатку зменшилася на 50%, а при подальшому підвищенні температури стрімко

зростала. За температури 34°C вона набула величини, вищої від контролю у 1,70 раза (рис. 3.8). Виявлені зміни АТФ-азної активності у м'язах окуня можуть свідчити про активацію анаболічних реакцій, спрямованих на протидію стрес-чиннику, а також про сповільнення гідролізу АТФ [101, 202]. Підвищення АТФ-азної активності у зябрах може бути результатом активації компенсаторного механізму, спрямованого на використання більшої кількості енергії для забезпечення життєдіяльності [82].

У плітки в напрямку зростання температури зафіксовано суттєве зниження АТФ-азної активності. Так, за температури води 34°C встановлено зниження активності ферменту у м'язах та зябрах плітки в 3,57 та 4,75 раза відповідно відносно контролю (рис. 3.8). Як відомо, цей фермент забезпечує йонний обмін у тканинах риб, використовуючи при цьому енергію, що генерується під час гідролізу АТФ. Із вищеописаних результатів відомо, що метаболізм плітки за підвищення температури води функціонує в анаеробних умовах, тобто основна частина енергії генерується внаслідок гліколізу [15]. У результаті цього потреба організму в енергії набагато перевищує інтенсивність її генерування [103, 203]. Таким чином, виникають розлади як у функціонування респіраторного апарату плітки так і в енергозабезпеченні її міоцитів. Результатом таких змін є зниження АТФ-азної активності у тканинах цього виду, що, в свою чергу, супроводжується пригніченням йонного обміну. Не виключено також, що активність ферменту знижується в результаті ущільнення мембран клітин плітки, що обмежує її проникність та плинність [4, 7, 130].

Відповідь АТФ-азних систем у тканинах досліджуваних риб характеризується фазовістю, оскільки добре узгоджується з відомим ефектом розвитку відповіді гідробіонтів на дію токсикантів залежно від концентрації (в нашому випадку температури) та в часі. Така відповідь включає стадію пригнічення метаболічних реакцій та фізіологічних функцій внаслідок первинного токсичного стресу, формування толерантності до токсиканту з наступною активацією адаптивних систем. Виходячи із цього, можна

припустити існування єдиного механізму реакції АТФ-аз мембран клітин різних видів риб на несприятливу дію: на первинних етапах дії підвищеної температури води має місце активація нею мембранних АТФ-аз та мембранного транспорту, після чого настає фаза пригнічення (інгібування) з наступним її відновленням [202].

Досліджено також активність сукцинатдегідрогенази. Відомо, що СДГ є не лише важливим ферментом циклу Кребса, а й ключовою складовою комплексу II дихального ланцюга, де відіграє роль посередника між ФАД-залежними субстратами та електронотранспортним ланцюгом [7].

Встановлено, що у м'язах коропа активність цього ферменту із підвищенням температурного режиму спочатку стрімко знизилася, та при 26°C набула величини в 2,05 раза меншої від контролю (рис. 3.9). В подальшому спостерігалось незначне зростання активності СДГ, нижче рівня контролю. За максимальної температури активність ферменту становила 1,39 нМоль/мг білка×хв., що є меншим від контролю у 1,51 раза (рис. 3.9).

У зябрах коропа активність СДГ із підвищенням температурного режиму характеризується параболічною залежністю. Варто відмітити, що максимальна активність ферменту була за температури 28°C – 6,26 нМоль/мг·білка×хв, тобто в 6,01 раза вищою від контролю. В подальшому активність СДГ знизилася та при 34°C і стала меншою від контролю у 2,36 раза (рис. 3.9).

Встановлена зміна активності одного із найважливіших ферментів енергетичного обміну у м'язах коропа може свідчити про згубний вплив підвищеної температури води на хімізм метаболічних реакцій. Оскільки функціонування СДГ залежить від постачання у клітини кисню, то зниження його активності може свідчити про настання гіпоксії у тканинах риб [4, 115]. У зябрах початкові коливання температури, вочевидь, зумовлюють позитивну кореляцію між активністю ферменту та підвищенням температурного режиму. Проте, в подальшому висока температура все ж інгібує аеробні процеси в організмі риб, про що свідчить відповідна активність СДГ [106].

В окуня активність цього ферменту у м'язах має таку ж закономірність, як і в коропа. Проте, у зябрах початкове зростання активності СДГ спостерігається вже при 26°C та дорівнює 4,01 нМоль/мг·хв, що є у 2,86 раза вище від контролю (рис. 3.9).

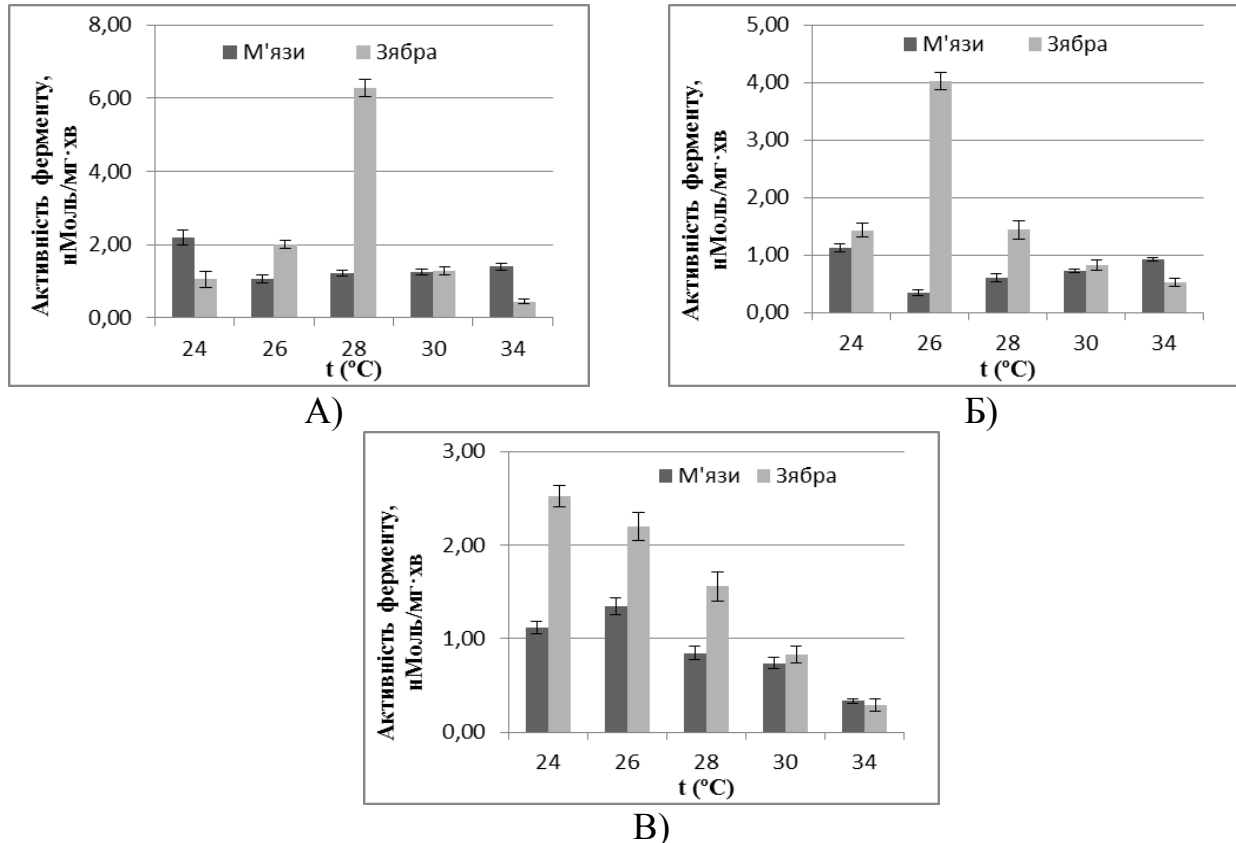


Рис. 3.9. Активність сукцинатдегідрогенази у м'язах та зябрах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо плітки, то підвищення температури води спричиняє суттєве зниження активності СДГ у її м'язах та зябрах у 3,39 та 8,92 раза відповідно відносно контролю (рис. 3.9). Очевидно у тканинах плітки сповільнюється реакція окиснення сукцинату до фумарату, та в цілому інгібується функціонування циклу трикарбонових кислот [114, 204]. Не виключено, що діяльність дихального ланцюга мітохондрій також сповільнюється. У такому випадку, організмом плітки генерується недостатня кількість енергії для нормальної життєдіяльності. У м'язах альтернативою цьому може бути перехід на анаеробних шлях окиснення глюкози [140]. Проте клітини зябер потребують більшого енергозабезпечення, тому в цьому випадку респіраторний апарат

плітки знаходиться в критичних умовах. Отже, за цим критерієм плітка менш резистентний вид до дії підвищеної температури води ніж окунь та коропа.

Активність ЛДГ у досліджуваних видів риби суттєво відрізняється. Щодо коропа, то за температури 26°C у його м'язах спостерігається вірогідне зниження активності ферменту у 2,47 раза порівняно із контролем (рис. 3.10). Починаючи від 28°C активність ЛДГ пропорційно зростає, але все ж залишається нижчою від контрольного рівня. За температури 34°C активність ферменту дорівнює 6,37 МОд/дм³, що менше від контрольної величини в 1,39 раза (рис. 3.10).

У зябрах коропа за температурного режиму 26°C активність ферменту знижується в 1,78 раза щодо контролю, а при подальшому підвищенні температури залишається майже на одному рівні. Показник активності одного із основних гліколітичних ферментів може свідчити про стабільно сповільнене протікання анаеробних процесів у тканинах коропа [82, 86, 173].

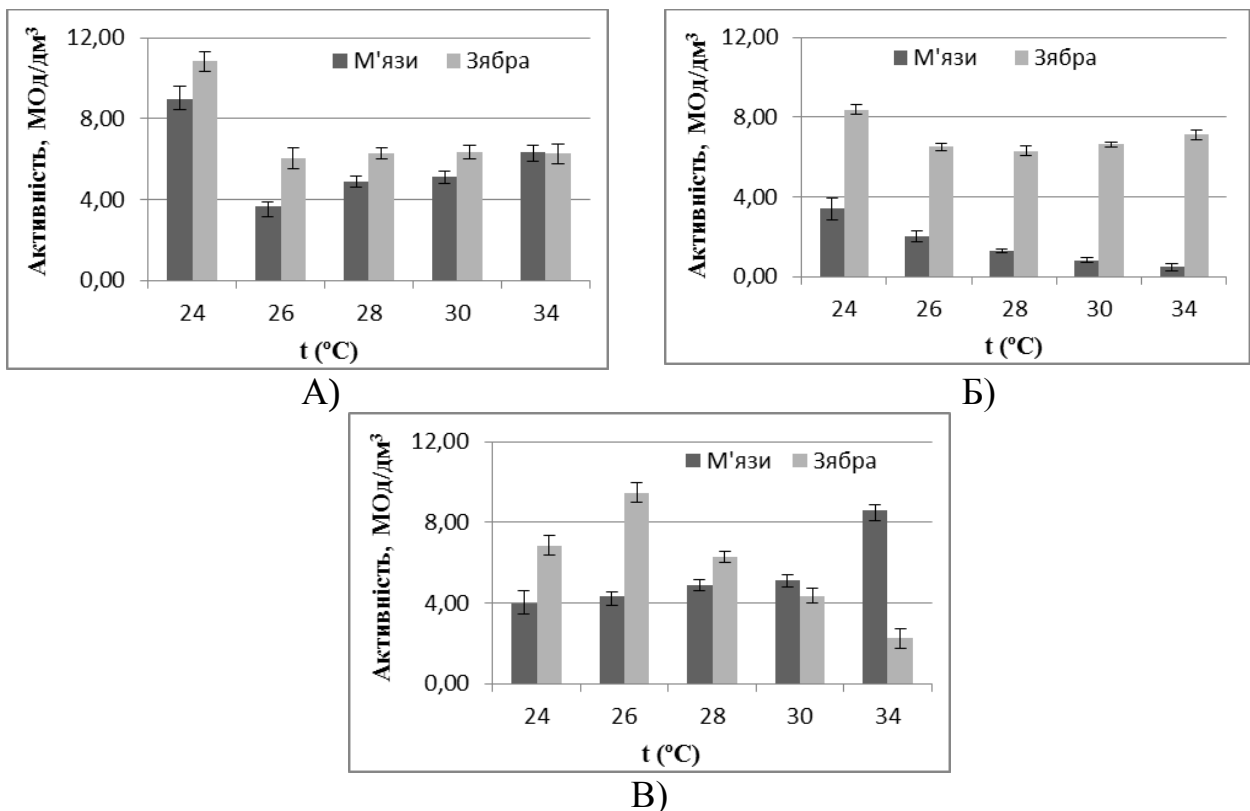


Рис. 3.10. Активність лактатдегідрогенази у м'язах та зябрах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо окуня, то у його м'язах відмічено поступове значне зниження активності ЛДГ, що за температури 34°C була в 7,23 раза меншою від контролю (рис. 3.10). У зябрах активність ферменту подібна до показників у коропа, проте від початкового зниження активності при 26°C у 1,28 раза щодо контролю в подальшому спостерігається поступове незначне підвищення активності ЛДГ, що за максимальної температури менше від контролю у 1,16 раза. Згідно з отриманими даними можна стверджувати, що гліколітичні процеси у м'язах окуня із підвищенням температури сповільнюються, що може бути зумовлено низькою стійкістю цього виду до підвищеної температури [88, 200].

Щодо плітки, то в її м'язах зафіксовано підвищення активності ЛДГ в напрямку зростання температури води, що при 34°C була вищою за контроль у 2,17 раза (рис. 3.10). Очевидно це є наслідком активації гліколітичних процесів у м'язах плітки в результаті недостатнього надходження кисню у міоцити [65, 82]. Також переважання гліколізу над циклом трикарбонових кислот забезпечує підтримання енергетичних запасів на мінімальному рівні до моменту, коли інгібуюча дія несприятливого чинника на організм риб припиниться.

Щодо зябер плітки, то зафіксовано підвищення активності ЛДГ за температури 26°C на 10% щодо контролю. Проте надалі в напрямку підвищення температури води активність ферменту вірогідно ($P \leq 0,05$) знижувалась, та при 34°C була меншою за контроль у 3,34 раза (рис. 3.10). Очевидно функціонування гліколітичних процесів у зябрах плітки інгібувалось дією підвищеної температури води. Оскільки активність СДГ та АТФ-ази у зябрах цього виду також знижується за умов експерименту, то очевидно, що енергетичний та йонний обмін у зябрах плітки функціонують дуже слабо. Тривала дія підвищеної температури спричинить надмірне виснаження її організму, що може нести за собою летальні наслідки.

Важливе місце в енергетичному забезпеченні клітини належить цитохромоксидазі (ЦО), активність якої паралельно залежить від активності СДГ. ЦО – векторний фермент внутрішньої мембрани мітохондрій, що відіграє

ключову роль у регуляції швидкості окиснювального фосфорилування та є надвичайно чутливим до токсикантів різної природи [7, 108, 109, 110].

Встановлено, що за активністю ЦО всі досліджувані види риб на підвищення температури води реагували різним чином. У м'язах та зябрах коропа зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження активності цитохромоксидази за температури води 34°C у 1,70 та 1,79 раза відповідно щодо контролю (рис. 3.11). Очевидно у напрямку підвищення температури у тканинах коропа інгібується функціонування окиснювального фосфорилування а також генерування АТФ.

Однак, зниження активності ЦО у тканинах зазначеного виду не дуже стрімке, що вказує на відносну стійкість організму коропа до дії підвищеної температури води на рівні окиснювальних процесів [13].

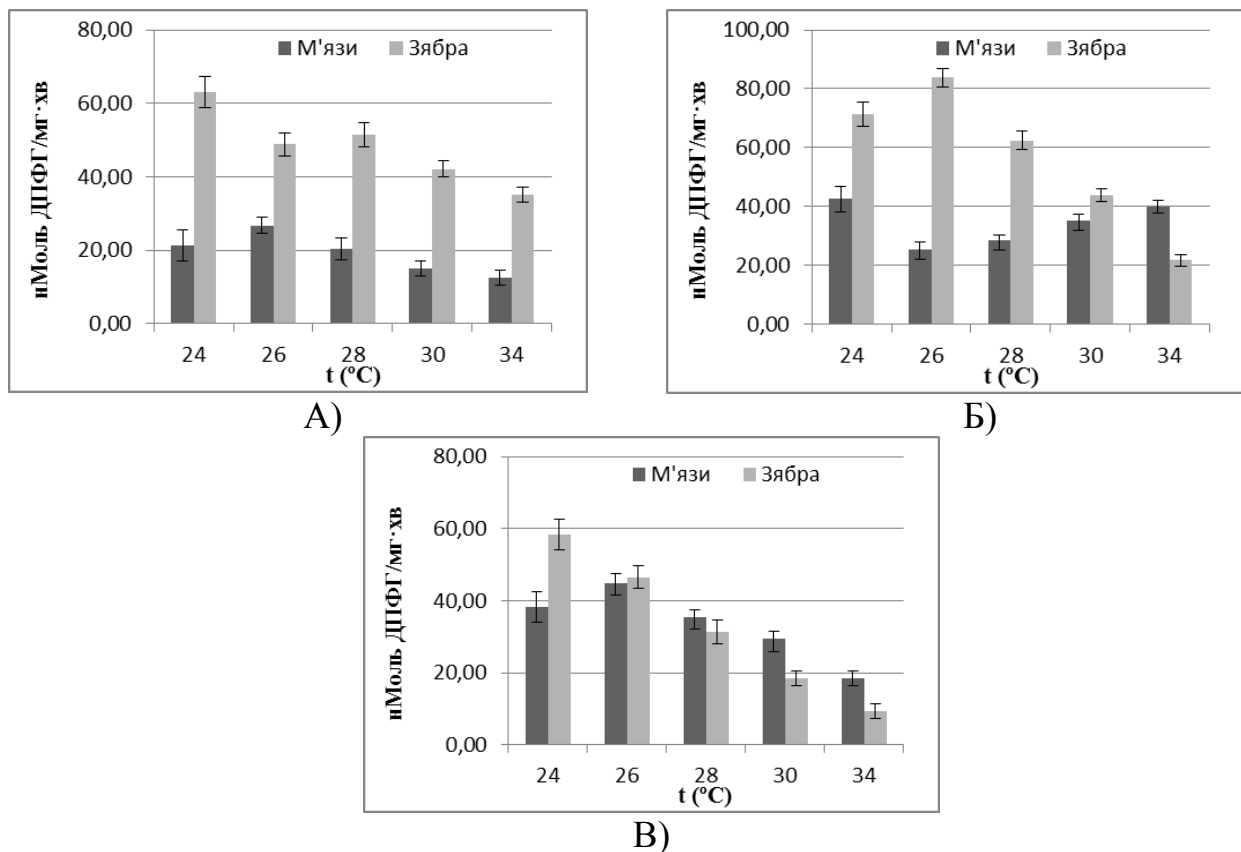


Рис. 3.11. Активність цитохромоксидази у м'язах та зябрах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо окуня, то в нього ситуація неоднозначна. За температури 26°C встановлено зниження активності ЦО в його міоцитах у 1,68 раза щодо контролю (рис. 3.11). При поступовому підвищенні температури води спостерігалась тенденція до зростання активності ферменту, проте нижче рівня контролю. Отримані результати активності ЦО у м'язах окуня прямо корелюють із активністю СДГ, що вказує на розвиток у його міоцитах адаптивної реакції, спрямованої на відновлення нормального функціонування циклу трикарбонових кислот та дихального ланцюга [97, 205]. За рахунок цього процеси окиснювального фосфорилування також дещо відновлюються, що дозволяє забезпечувати м'язи окуня достатньою кількістю енергії [130].

У зябрах окуня закономірність дещо інша. Так, за температури води 26°C зафіксовано первинне зростання активності ЦО у його зябрах на 15% щодо контролю (рис. 3.11). Це може свідчити про перебування організму окуня у фазі толерантності на цьому адаптаційному етапі. Надалі в напрямку підвищення температури води у зябрах цього виду розвивається фаза інгібування [97], а саме зафіксовано зниження активності ЦО у 3,38 раза відносно контролю при 34°C (рис. 3.11). Активність СДГ також прямо корелює у цьому випадку, що вказує на суттєве пригнічення всіх ланок аеробного шляху енергозабезпечення у зябрах окуня. Активність ЛДГ показує, що респіраторний апарат окуня функціонує в анаеробних умовах та вказує на ускладнені та сповільнені процеси газообміну у зябрах [33, 64]. Наслідком цього є надмірне загальне виснаження організму окуня, що за тривалої дії чинника може мати летальні наслідки.

У м'язах та зябрах плітки зафіксовано стрімке інгібування активності цитохромоксидази, яка за максимальної температури була меншою за контроль у 2,06 та 6,45 раза відповідно (рис. 3.11). Очевидно, що цей вид найважче переносить дію підвищеної температури води. Енергетичні та окиснювальні процеси в її тканинах суттєво реорганізуються, та функціонують з мінімальною інтенсивністю. Активність СДГ та ЛДГ у зябрах плітки також знижуються в напрямку підвищення температури, що свідчить про пригнічення

всіх шляхів генерування енергії. За подібних умов в організмі плітки функціонують переважно енергозатратні процеси на перевагу енергогенеруючим [6, 93]. Очевидно, наслідком зазначеного впливу може бути загибель організму плітки.

3.3. Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб за дії підвищеної температури води.

3.3.1. Вміст аденілатів у тканинах коропа.

Відомо, що підвищення температури води спричиняє реорганізацію енергетичного обміну у тканинах риб, стимулює мобілізацію всіх енергетичних ресурсів клітини, органів або системи органів. Також цей чинник може бути однією із причин розвитку енергодефіциту в організмі риб [36, 38, 206]. Останнє призводить до зниження швидкості окиснення субстратів мітохондріями, роз'єднання окисного фосфорилування та дихання мітохондрій, а в окремих випадках до генерування активних форм кисню [119].

В результаті досліджень було встановлено, що вміст аденілових нуклеотидів та їх співвідношення у різних тканинах риб значною мірою залежить від температурного режиму води, зокрема від його астатичності. Так, за температури 26°C у м'язах коропа виявлено зниження вмісту АТФ у 2,53 раза відносно контролю (рис. 3.12), та зниження суми аденілатів у 1,88 раза (рис. 3.12) щодо контролю.

Такі зміни відобразились і на співвідношенні основних компонентів аденілатної системи, а саме супроводжувалися тенденцією до підвищення частки АДФ та АМФ (на 11%) у м'язах риб порівняно із співвідношенням у контролі (рис. 3.13), що свідчить про суттєві зміни метаболізму аденілатів [54, 133].

Наступні піддослідні групи коропа, що знаходились в умовах температурного режиму 28°C, 30°C та 34 °C характеризувалися також

зниженням вмісту АТФ, АДФ та АМФ порівняно із контролем, проте не так критично, як за попередньої температури (рис. 3.12).

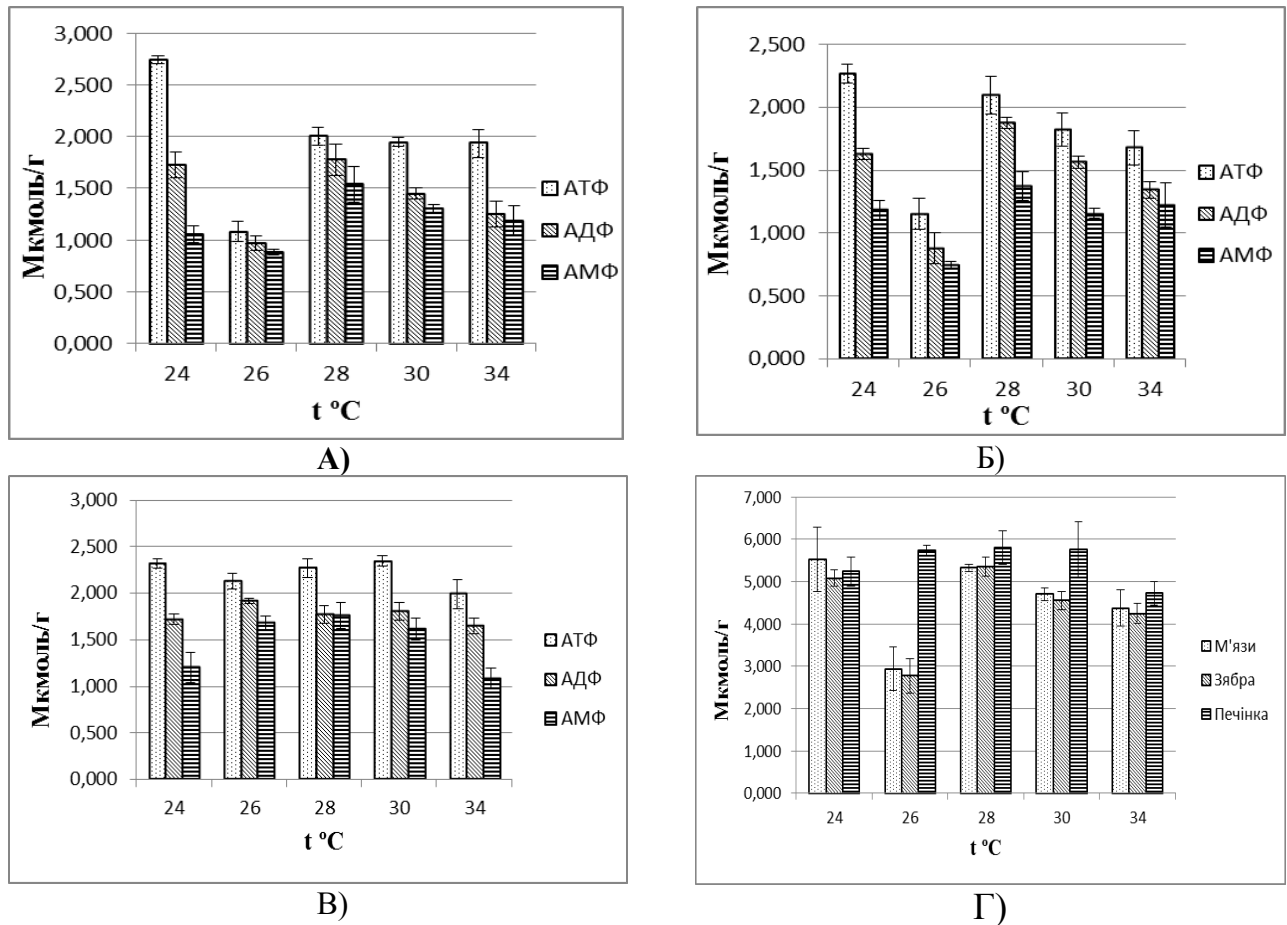


Рис. 3.12. Вміст аденілових нуклеотидів у м'язах (А), зябрах (Б), печінці (В) та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) у тканинах коропа за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Окрім цього, спостерігалась тенденція до поступового зниження частки АДФ та АМФ починаючи від температури 28°C та, практично, сталість вмісту АТФ у м'язах коропа, що за температури 34°C були у співвідношенні АТФ:АДФ:АМФ – 44%:29%:27% (рис. 3.13). Сумарний вміст нуклеотидів за згаданих умов знижувався та за температури 34°C був нижчим за контроль у 1,24 раза (рис. 3.12). Можна припустити, що відповідні зміни спричинені сповільненням катаболічних процесів у метаболізмі аденілатів, а також пригніченням окислювального фосфорилування [10, 11, 13, 122]. Також тут може мати місце уповільнення утилізації основного макроерга (АТФ).

У зябрах коропа за температури 26°C спостерігається також вірогідне зниження вмісту АТФ, АДФ та АМФ відповідно у 1,96, 1,85 та 1,58 рази відносно контрольної величини (рис. 3.12). За температури 28°C різниця у концентрації АТФ дещо менша (1,08 рази менше відносно контролю) та в діапазоні температур 28–34°C відмічено поступове зниження концентрацій аденілатів у зябрах коропа. Для нормального функціонування клітин тканини істотним є не стільки абсолютний вміст аденілових нуклеотидів, а й і їх співвідношення [122]. Щодо відсоткового співвідношення макроергів у тканині, то встановлено, що за температури 28°C спостерігається незначне підвищення вмісту АДФ, що становить 35,1% від загального вмісту аденілатів у зябрах проти 31,6% у контролі (рис. 3.13). Також за температури 28°C було встановлено незначну тенденцію до збільшення сумарного вмісту аденілових нуклеотидів щодо контрольної величини (рис. 3.12).

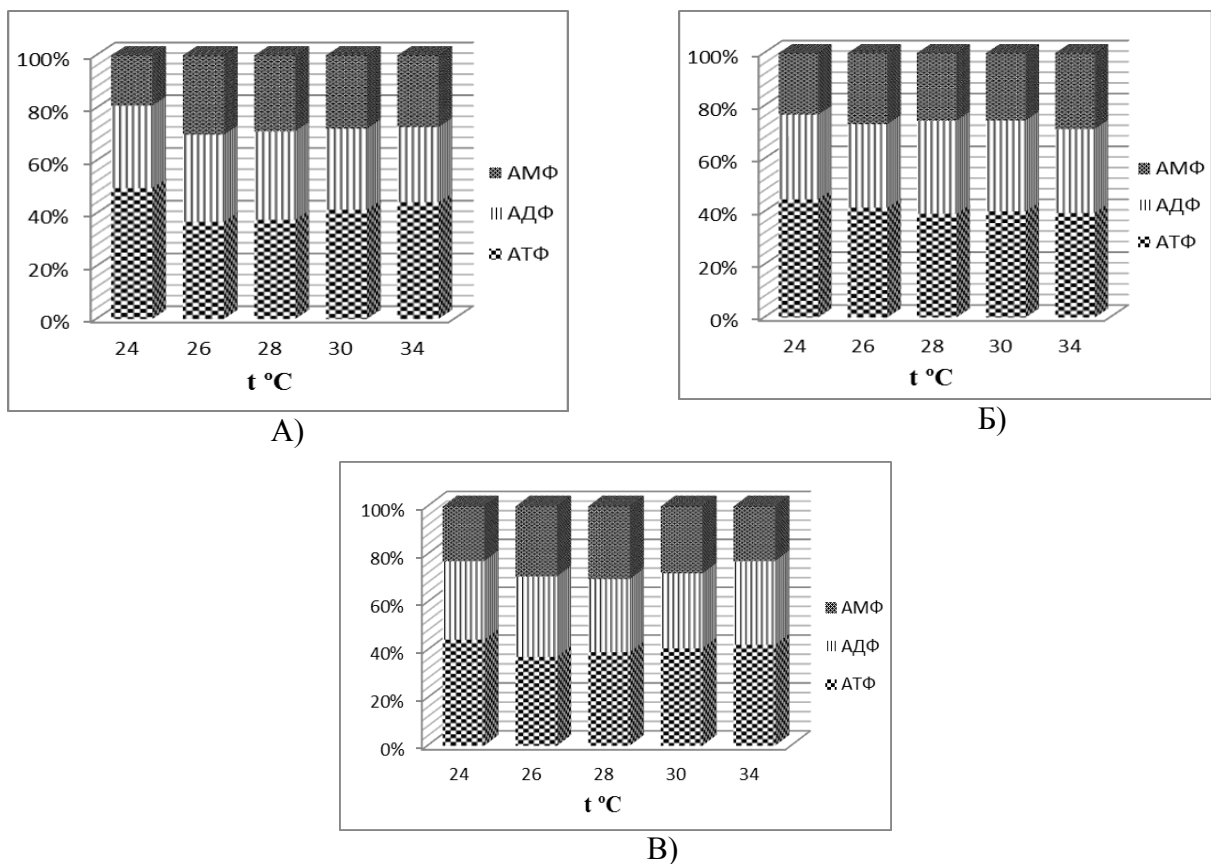


Рис. 3.13. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ+АДФ+АМФ) у тканинах коропа за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Оцінюючи можливі причини зниження вмісту АТФ у м'язах та зябрах коропа при підвищеному температурному режимі, можна припустити важливу роль підсилення інтенсивності енергозалежних процесів в тканинах і обмеження швидкості окислювального фосфорилування в мітохондріях [5, 20, 69]. Часто, згідно літературних даних, зазначені зміни зв'язані з роз'єднанням окислювального фосфорилування та диханням клітин за рахунок стимуляції перекисного окиснення ліпідів в клітині [7, 10].

Також, аналізуючи отриманий характер змін у співвідношенні макроергічних речовин, можна стверджувати, що має місце розвиток адаптивних реакцій організму до несприятливих чинників середовища існування, оскільки незначне підвищення температури води на 2°C порівняно до контролю викликає первинні зміни у вмісті та співвідношенні аденілатів (вірогідне зниження всіх значень) та закономірний розвиток залежності згаданих показників із подальшим підвищенням температури [67, 42].

У тканинах печінки коропа за температури 26°C відмічено достовірне зниження вмісту АТФ у 1,10 раза відносно контролю та підвищення вмісту АДФ та АМФ у 1,11 та 1,40 раза відповідно відносно контрольної величини (рис. 3.12). При цьому, спостерігались зміни у співвідношенні аденілатів за цієї температури, а саме АТФ:АДФ:АМФ – 37,1%:33,4%:29,3%, проти 44,2%:32,8%:22,9% у контролі (рис. 3.13). За температури 28°C частки АДФ та АМФ у печінці коропа майже зрівнялися (30,5%:30,3%). Незначне підсилення синтезу АТФ у аденілаткіназній реакції підтверджується тенденцією до підвищення вмісту АТФ за температури 30°C [122], проте мала різниця у співвідношенні АДФ:АМФ – 31,3%:27,9% свідчить про переважання енергозатратних процесів над енергопродукуючими. За температури 34°C вміст усіх аденілатів вірогідно знижувався.

3.3.2. Вміст аденілатів у тканинах окуня.

Щодо окуня, то у його м'язах із підвищенням температури води від 26°C до 34 °C виявлено зниження вмісту АТФ у 1,51 раза та суми аденілатів на 18% (рис. 3.14) порівняно до контролю за максимальної температури. Подібні зміни спостерігались і відносно інших компонентів аденілатної системи, а саме супроводжувалися тенденцією до зниження вмісту АДФ за температури 34°C та підвищенням рівня АМФ у 1,52 раза щодо контролю у м'язах риб за згаданої температури (рис. 3.14). Відповідний перерозподіл може свідчити про інтенсивне використання енергії організмом окуня та зміну спрямованості метаболізму аденілатів [40, 207].

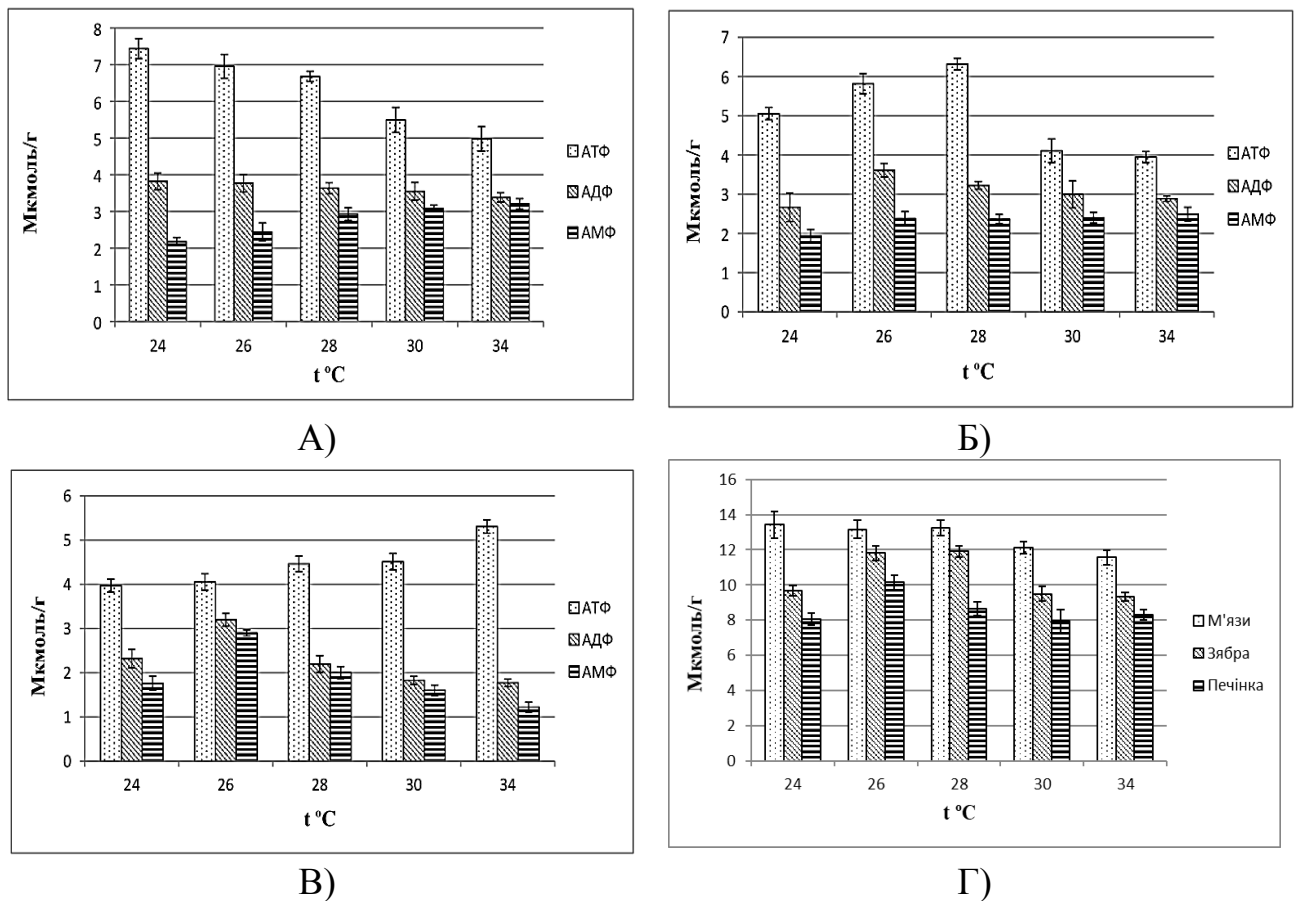


Рис. 3.14. Вміст аденілових нуклеотидів в м'язах (А), зябрах (Б), печінці (В) та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) у тканинах окуня за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Також відомо, що у працюючих скелетних м'язах кількість АТФ зменшується, а АДФ та АМФ зростає [5, 11]. Останні активують ресинтез АТФ

у мітохондріях, гальмуючи транспортування йонів кальцію у міоцити [119]. Тому, підвищення температури води могло спричинити переважання анаеробного шляху генерування енергії, про що свідчить зниження вмісту АТФ.

Щодо відсоткового співвідношення аденілатів, то зафіксовано тенденцію до поступового зниження частки АТФ, починаючи від температури 26°C, та підвищення частки АМФ та АДФ у м'язах окуня, що за температури 34°C були у співвідношенні АТФ:АДФ:АМФ – 43%:29%:27%, проти АТФ:АДФ:АМФ – 55%:28%:16% у контролі (рис. 3.15).

Очевидно, що підвищення частки аденозинмонофосфату в 1,70 раза відносно контролю може вказувати на переважання енергозатратних процесів над енергогенеруючими [5]. Також ми припускаємо, що відповідні зміни спричинені сповільненням катаболічних процесів у метаболізмі аденілатів та пригніченням окиснювального фосфорилування [122, 131].

У зябрах окуня, починаючи від температури 26°C, спостерігається поступове вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення вмісту АТФ, що за температури 28°C перевищує контроль у 1,27 раза (рис. 3.14). У подальшому в діапазоні температур 28–34°C спостерігається тенденція до зниження вмісту аденозинтрифосфату. Також на підвищення температури води окунь реагує незначним підвищенням вмісту АДФ. Вміст АМФ у зябрах окуня за температури 34°C був у 1,31 раза вищим за контроль (рис. 3.14).

Окрім цього, до змін, спричинених підвищенням температури води, можна віднести нерівномірне зростання суми аденілатів у зябрах окуня, яка за температури води 28°C була в 1,23 раза менша від контролю. Зі зростанням температури вона поступово знижувалася. (рис. 3.14).

Щодо відсоткового співвідношення макроергів у тканині, то зафіксовано зниження частки АТФ та підвищення частки АДФ та АМФ, які за температури води 34°C складали АТФ:АДФ:АМФ – 42%:30:28%, проти 53%:27%:20% у контролі (рис. 3.15).

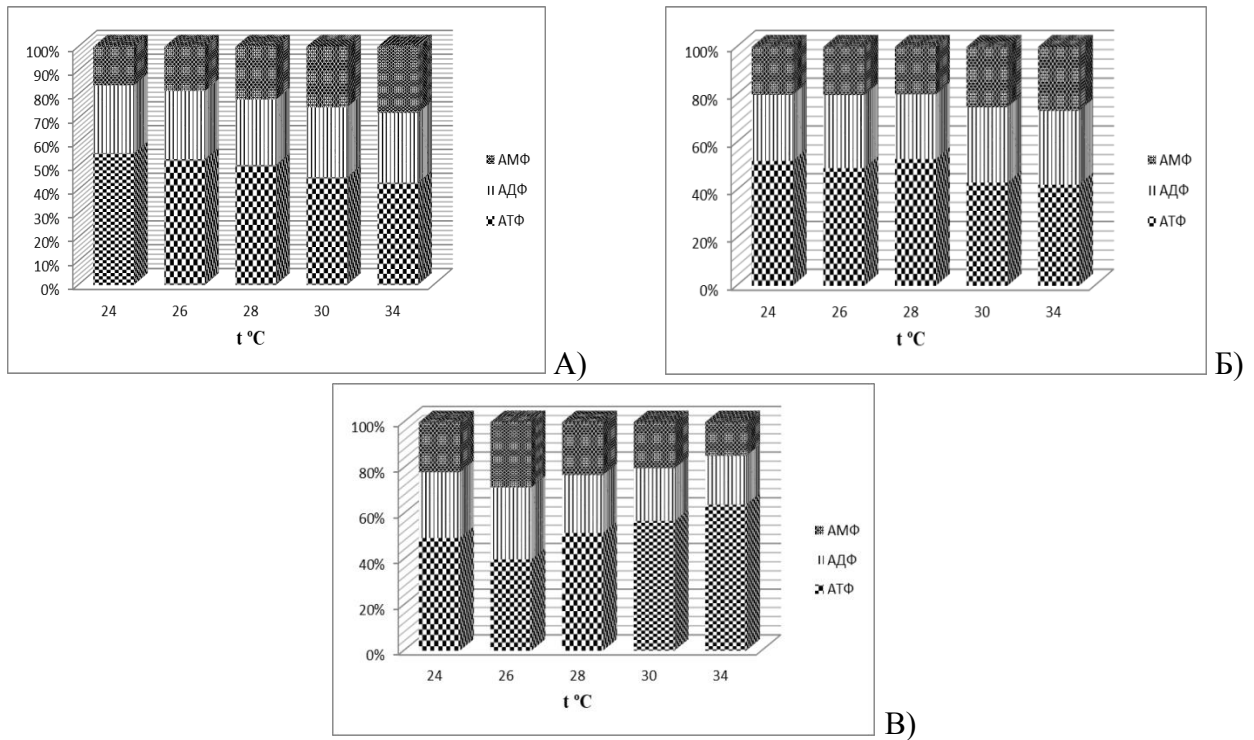


Рис. 3.15. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) окуня за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Оцінюючи отримані результати, варто відмітити важливу роль посилення інтенсивності енергозалежних процесів у зябрах окуня та обмеження швидкості окиснювального фосфорилування в мітохондріях [23, 112]. Підвищення температури води, у цьому випадку, може спричинити роз'єднання дихання мітохондрій і окислювального фосфорилування за рахунок стимуляції перекисного окиснення ліпідів в клітині [7, 69, 119].

Також не виключено, що тут має місце адаптація організму до несприятливих чинників середовища існування, оскільки найнижча після контролю температура викликає первинні зміни у концентрації та співвідношенні аденілатів (вірогідне підвищення вмісту АТФ) та закономірний розвиток залежності величини згаданих показників від подальшого підвищення температури [5, 11, 61].

У печінці окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення рівня АТФ за температури 34°C у 1,35 раза від контролю (рис. 3.14). Щодо АДФ та АМФ, то за температури 26°C спостерігалось підвищення рівня зазначених аденілатів у

1,39 та 1,70 раза відповідно. У подальшому із підвищенням температури встановлено тенденцію до зниження величин цих показників. Сумарний вміст аденілатів у печінці окуня практично не змінювався з підвищенням температури, проте зафіксовано суттєві зміни у їх відсотковому співвідношенні. Так, за експозиції 34°C відмічено зростання частки АТФ у 1,30 раза та зниження частки АДФ та АМФ у 1,33 та 1,57 раза відповідно щодо контролю (рис. 3.15).

Подібний перерозподіл може свідчити як про активацію фосфорилування низькоенергетичних фосфатів, так і про сповільнення гідролізу та засвоєння АТФ [38, 208]. У будь-якому випадку, таке відсоткове співвідношення є відхиленням від норми та вказує на дисбаланс у системі АТФ:АДФ:АМФ печінки окуня.

3.3.3. Вміст аденілатів у тканинах плітки.

Біоенергетичний стан тканин плітки за умов експерименту дещо подібний до окуня, проте в окремих випадках зафіксовано чіткі відмінності. У напрямку зростання температури до 34°C встановлено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту АТФ у м'язах та зябрах плітки у 1,76 та 1,54 раза відповідно щодо контролю (рис. 3.16).

Концентрацію АДФ у м'язах цього виду риб також знижувалась та за максимальної температури була нижчою за контроль у 2,28 раза. Очевидно, що організм плітки залучає велику кількість енергії на протидію несприятливому чиннику. Оскільки зниження концентрації АТФ та АДФ у м'язах зазначеного виду пропорційне, то очевидно інтенсивність фосфорилування у міоцитах також пригнічується. Не виключено, що зменшення кількості високоенергетичного фосфату в м'язах плітки спричинено активацією міокіназної реакції [5, 38].

Як відомо, співвідношення АТФ і АДФ регулює функціонування ланцюга переносу електронів у відповідності з енергетичними потребами клітини. У

з'ябрах плітки зафіксовано стрімке зниження різниці співвідношення АТФ:ФДФ, причому кількість АТФ зменшується, а АДФ залишається майже незмінною. Очевидно, що респіраторний апарат плітки функціонує в анаеробних умовах, оскільки генерується низька кількість АТФ. Варто відмітити, що хоча гліколітичний шлях все ж забезпечує організм енергією, він характеризується низкою недоліків.

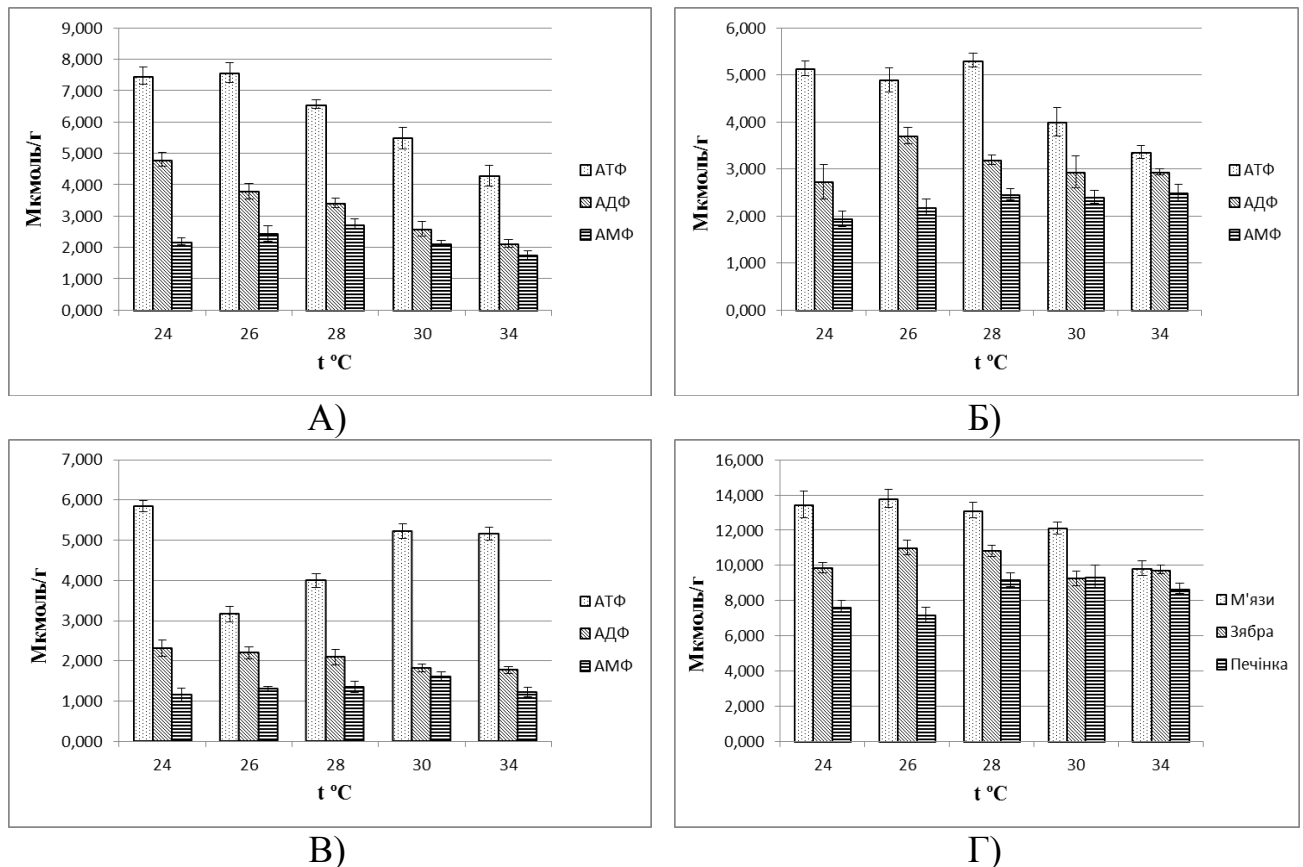


Рис. 3.16. Вміст аденілових нуклеотидів в м'язах (А), з'ябрах (Б), печінці (В) та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) у тканинах плітки за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Серед основних причин цього можна виділити накопичення лактату, що є кінцевим продуктом цього процесу. Підвищення концентрації лактату в м'язових волокнах викликає зміщення рН у кислий бік, при цьому відбуваються конформаційні зміни у м'язових білках, що призводять до зниження їх функціональної активності [89]. Таким чином, накопичення молочної кислоти в м'язових клітинах істотно порушує їх нормальне функціонування і веде до розвитку втоми в організмі риб [173].

Щодо низькоенергетичного фосфату (АМФ), то зафіксовано тенденцію до зростання його кількості у зябрах плітки в напрямку підвищення температури води (рис. 3.16). За таких умов зменшується різниця у співвідношенні АДФ:АМФ, що вказує на пригнічення фосфорилування АДФ. Зазвичай підвищення концентрації АМФ є пусковим механізмом для синтезу АТФ [69, 122]. Однак у цьому випадку кількість АТФ зменшується (рис. 3.16), що свідчить про значні зміни метаболізму аденілатів в організмі плітки із підвищенням температури води.

У печінці зазначеного виду за температури води 24°C зафіксовано істотне зниження кількості АТФ у 1,87 раза щодо контролю (рис. 3.16). Надалі із підвищенням температури води концентрація цієї макроергічної сполуки збільшувалася, проте за максимальної температури залишилась нижче від позначки контролю. Вміст АДФ та АМФ зі зміною температури води майже не змінювалися (рис. 3.16). Очевидно гепатоцити, будучи краще ізольованими від несприятливого чинника, ніж клітини м'язів та зябер, справляються із проблемою енергозабезпечення на вищому рівні. Причому цей орган відіграє важливу роль у метаболізмі енергії всього організму, оскільки вважається «біохімічною лабораторією» [13]. Тому нормальне функціонування основних шляхів генерування енергії у печінці плітки компенсує біоенергетичні потреби інших тканин.

Щодо відсоткового співвідношення макроергів у тканинах плітки, то зафіксовано зниження частки АДФ та підвищення частки АМФ в її м'язах у 1,32 та 1,41 раза відповідно щодо контролю (рис. 3.17). За температури води 34°C співвідношення аденілатів АТФ:АДФ:АМФ складало 52,4%:25,9%:21,6%, проти 51,6%:33,2%:15,1% у контролі (рис. 3.17). Очевидно це вказує на поступове дефосфорилування АДФ до АМФ та неорганічного фосфату, який, судячи із концентрації АТФ не використовується на ресинтез цього макроерга [7, 69]. Також відповідні зміни можуть свідчити про посилення інтенсивності енергозалежних процесів у м'язах плітки та обмеження швидкості окиснювального фосфорилування в мітохондріях [40].

Також у м'язах зазначеного виду за температури води 34°C зафіксовано зниження суми аденілатів (АТФ+АДФ+АМФ) у 1,36 раза відносно контрольної величини (рис. 3.16), що вказує на переважання енергозалежних процесів над енергогенеруючими.

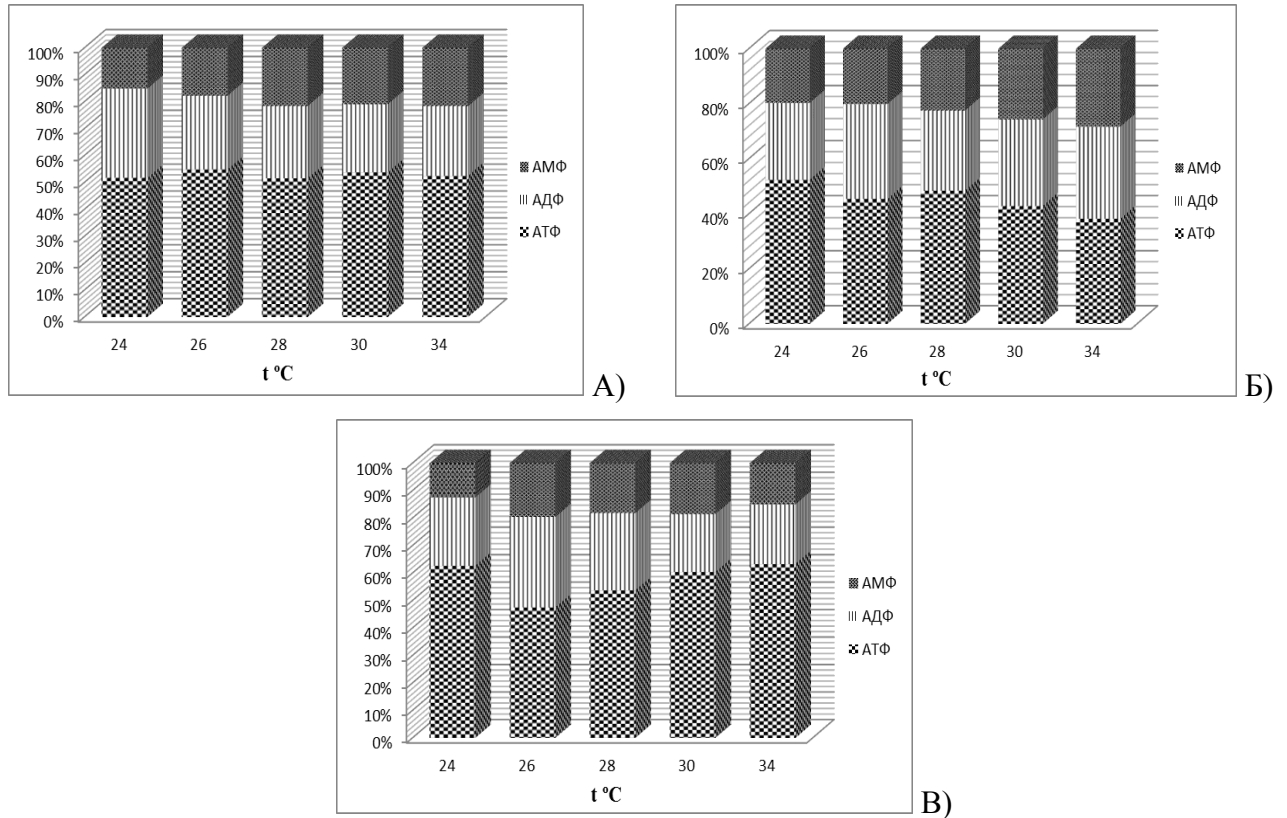


Рис. 3.17. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) плітки за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Аналіз отриманих результатів показав концентраційнозалежні зміни аденілатного профілю клітин зябер одного із аклімованих груп риб. Так, у зябрах плітки встановлено зниження частки АТФ в аденілатному пулі в напрямку зростання температури води та зростання частки АДФ та АМФ, що за температури 34°C були у співвідношенні АТФ:АДФ:АМФ – 38%:33%:29%, проти 52,6%:28,2%:19,9% у контролі (рис. 3.17). Зазначені зміни можуть бути свідченням посиленого гідролізу АТФ, в результаті чого підвищується концентрація інших компонентів аденілатного пулу [119, 133]. Відомо також,

що використання енергії АТФ може відбуватися за рахунок відщеплення не лише одного фосфатного залишку від молекули, а всіх трьох. В результаті цього залишається аденозильна група, яка може зв'язуватися з іншими сполуками, перетворюючи їх в активні форми [10, 74].

Зростання частки АДФ та більшою мірою АМФ вказує на пригнічення енергозалежних процесів та дихального ланцюга мітохондрій у зябрах плітки. Не виключено, що подібний перерозподіл може свідчити як про активацію фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів, так і про інгібування гідролізу та засвоєння АТФ [5, 40, 131].

Склад компонентів аденілатного пулу печінки плітки характеризується нерівномірним розподілом макроергічних сполук у всіх дослідних температурах. Співвідношення АТФ:АДФ:АМФ у гепатоцитах плітки за максимальної температури води становило 38%:33%:29% (рис. 3.17), що практично не відрізняється від контрольних величин. Це підтверджує високу резистентність цього органа до дії підвищеної температури води, а також підкреслює роль метаболізму печінки у енергетичному забезпеченні організму риб. Не виключено, що це є механізмом адаптації до дії несприятливого чинника, що проявляється в збалансуванні процесів гідролізу АТФ та його ресинтезу [20, 44, 209]. Це також підтверджує сумарний вміст аденілатів (АТФ+АДФ+АМФ) (рис. 3.16), який по мірі зростання температури пропорційно підвищувався.

3.4. Динаміка основних біоенергетичних індексів у тканинах риб за дії підвищеної температури води.

Здатність клітини виконувати енергозалежні процеси (наприклад транспорт іонів, біосинтез білка) визначається величиною аденілатного енергетичного заряду (ЕЗ) [7, 69]. Перерозподіл між АТФ, АДФ та АМФ визначає зміни згаданого показника. Збільшення ЕЗ викликає активацію ферментів, які утилізують АТФ з утворенням АДФ або АМФ та інактивацію

реакцій протилежного характеру. Зменшення ж енергетичного заряду, навпаки, супроводжується активацією синтезу АТФ та інактивацією розпаду [10, 20]. Величина енергетичного заряду підтримується на постійному рівні завдяки збереженню рівноваги між АТФ, АДФ й АМФ.

Нами було встановлено, що в м'язах коропа, відповідно до вищезгаданого вмісту аденілатів, за температури 26°C відмічено вірогідне зниження ЕЗ у 1,26 раза відносно контролю (рис. 3.18). В подальшому у діапазоні температур 28–34°C спостерігалось незначне зростання ЕЗ, проте його величина залишалась нижчою за контроль (у 1,12 раза за температури 34°C). Подібна зміна величини ЕЗ може бути спричинена зміною рівноваги між АТФ, АДФ та АМФ в бік зростання частки АМФ при сталій кількості АТФ [5, 13, 133].

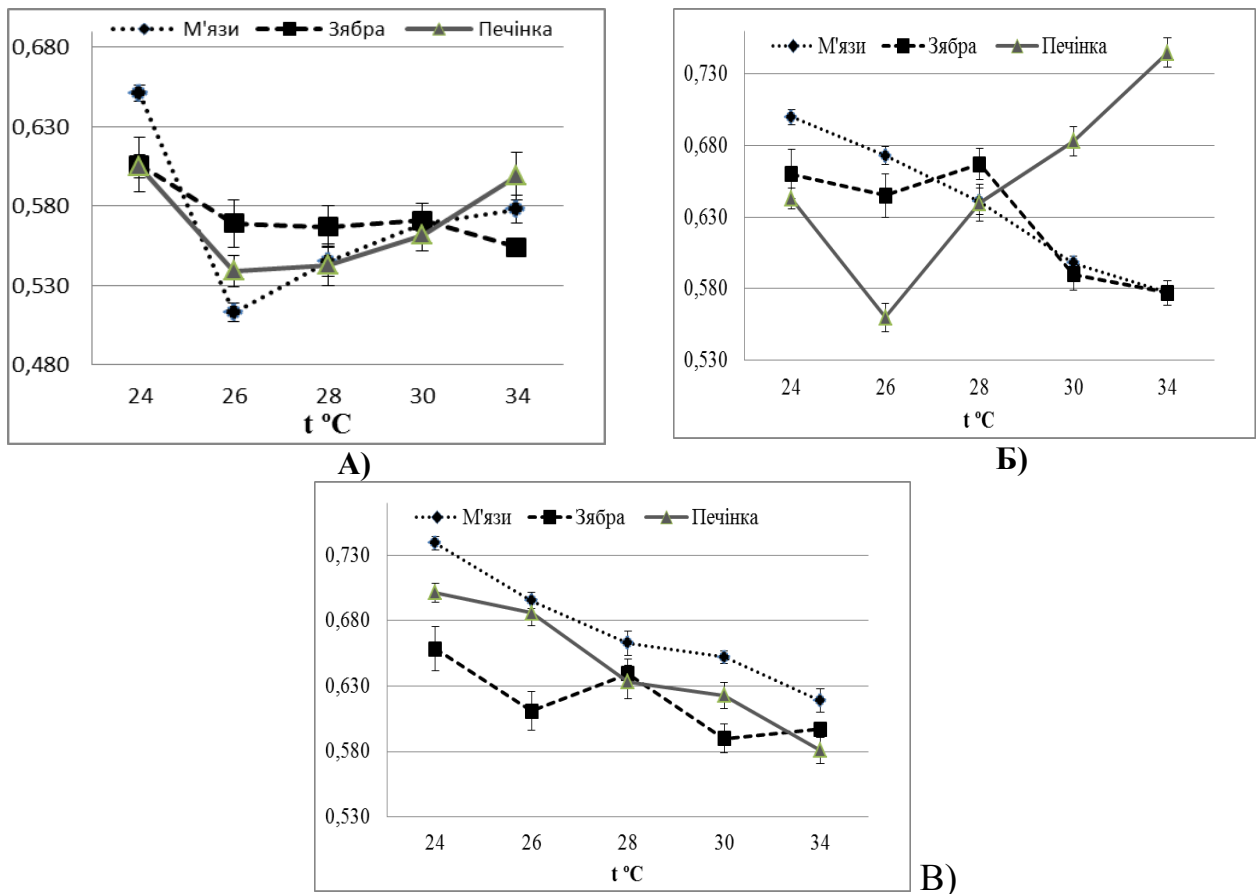


Рис. 3.18. Динаміка величини аденілатного енергетичного заряду в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

У зябрах коропа відмічено тенденцію до поступового зниження величини енергетичного заряду. За температури 34°C ЕЗ дорівнював 0,55, що на 9% менше за контроль (рис. 3.18). Оскільки інтенсифікації утворення АТФ у зябрах коропа не спостерігалось, то отримані результати можуть свідчити про інактивацію розпаду АТФ. В подальшому, такі зміни можуть призвести до виникнення гіпоенергетичного стану в організмі коропа [23, 54].

Цікавим є той факт, що у гепатоцитах коропа спостерігалось незначне поступове зростання ЕЗ в діапазоні 26–34°C при зниженні вмісту всіх аденілатів за максимальної температури (рис. 3.18). Враховуючи величину показника енергетичного заряду в характеристиці рівня енергетичного забезпечення тканини, можна припустити, що збільшення швидкості утилізації аденілових нуклеотидів при підвищенні температури супроводжується включенням компенсаторних механізмів, спрямованих на попередження зниження рівня енергетичного забезпечення гепатоцитів [20, 40, 206]. Особливого значення серед них в умовах температурної стимуляції енергозалежних процесів, очевидно, набуває підсилення аденілаткіназної реакції і підвищення швидкості утилізації АМФ в 5'-нуклеотидазному шляху, спряженим з утворенням аденозину [7].

Щодо окуня, то нами було встановлено, що в його м'язах, відповідно до вищезгаданого вмісту аденілатів, в діапазоні температур 26–34°C відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження величини ЕЗ, яка за температури 34°C є нижчою за контроль у 1,24 раза (рис. 3.18). Оскільки інтенсивного синтезу АТФ у м'язах окуня не спостерігалось, то отримані результати можуть свідчити про інгібування генерування макроерга на противагу активації розпаду [69]. У зябрах окуня ЕЗ із підвищенням температури води до 28°C зростає, а в подальшому спостерігається тенденція до зниження його величини.

Очевидно, що підвищення температури води створювало гіпоксичні умови для окуня, що відобразилося на зниженні вмісту АТФ у зябрах, та, як наслідок, зменшенні величини ЕЗ.

У печінці окуня температура води 26°C первинно стимулювала зниження ЕЗ у 1,28 раза щодо контролю, та стрімко підвищувала величину цього показника зі зростанням температурного режиму (рис. 3.18). Подібні зміни ЕЗ можуть бути спричинені зміною рівноваги між АТФ, АДФ та АМФ в бік зростання частки АТФ при одночасному зниженні вмісту АДФ та АМФ. В подальшому такі перебудови можуть призвести до виникнення енергодефіциту в організмі окуня, оскільки високий заряд інгібуватиме синтез АТФ [38, 200].

У плітки ж за умов експерименту зафіксовано закономірне зниження величини ЕЗ у м'язах, зябрах та печінці у 1,23, 1,15 та 1,21 раза відповідно щодо контролю за температури води 34°C (рис. 3.18). Очевидно, що це підтверджує інгібуючий ефект підвищеної температури води на біоенергетичний стан організму цього виду. Подібні зміни свідчать про розвиток енергетичної втоми в організмі плітки, що відображається у недостатній інтенсивності фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів, та, як наслідок, утворення малою кількістю АТФ [119]. Не виключено, що це може бути механізмом активації загального шляху катаболізму для забезпечення енергетичних потреб, оскільки рушійною силою цього процесу є зменшення величини ЕЗ.

Не менш важливим при дослідженні біоенергетичного стану організму є величина індексу фосфорилювання (ІФ) [10, 69, 123]. Особлива увага приділяється аналізу динаміки цього показника, оскільки він визначає здатність клітини синтезувати АТФ із АДФ і неорганічного фосфору. Також цей показник являє собою співвідношення «діючих мас», вказуючи на інтенсивність фосфорилювання [69].

Встановлено, що у м'язах та печінці коропа мінімальна величина ІФ була за температури 26°C, а у зябрах при 28°C. Також, у м'язах в діапазоні температур 28–34°C спостерігалось вірогідне зростання ІФ, що за максимальної температури становило 1,52 (майже дорівнювало контролю) (рис. 3.19). У зябрах коропа спостерігається подібна закономірність, проте виражена у меншій мірі. У печінці встановлено тенденцію до незначного зростання

величини ІФ за температури 28 та 30°C, проте воно так і залишилось меншим за контроль.

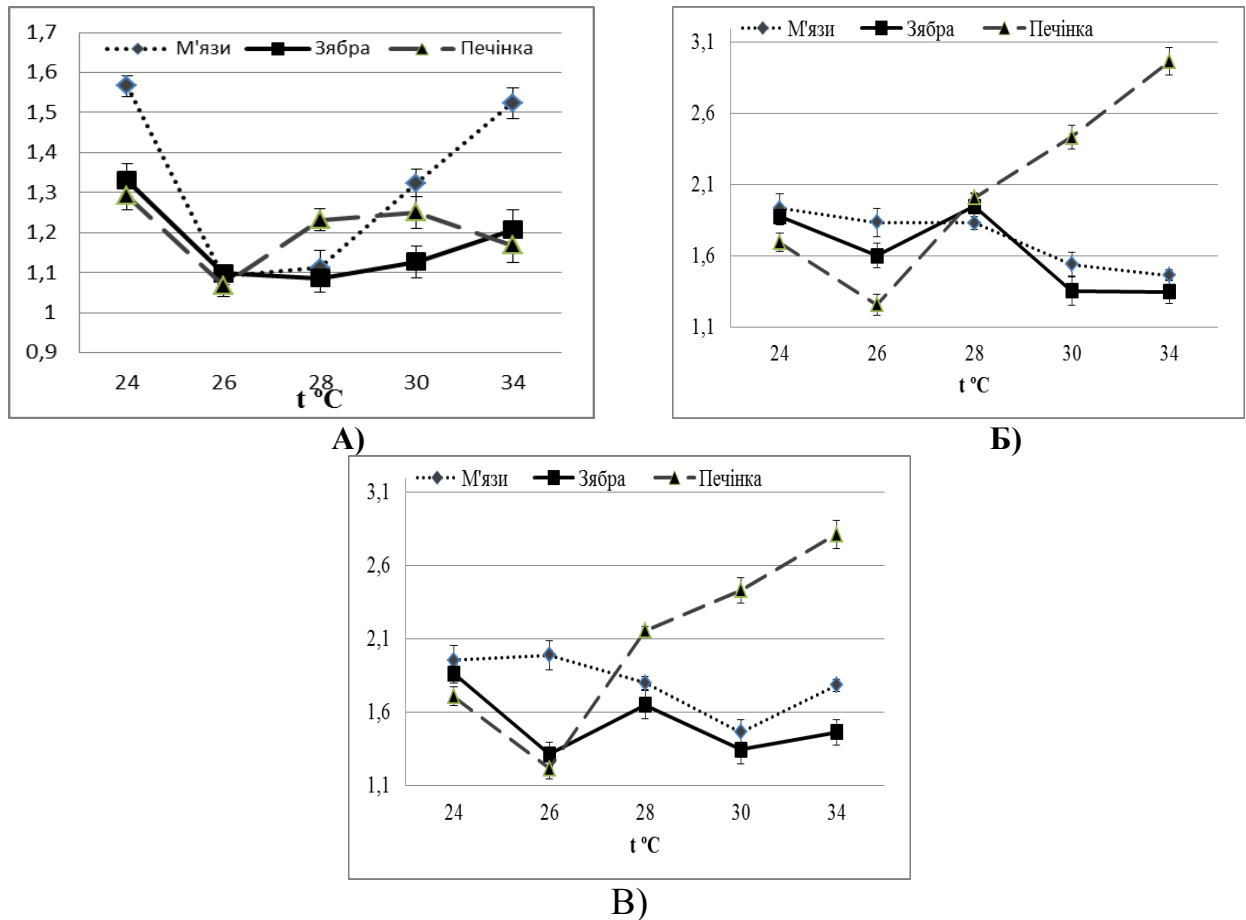


Рис. 3.19. Динаміка величини індексу фосфорилювання в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Можна дійти висновку, що найбільш інтенсивно процеси фосфорилювання при пристосуванні коропа до підвищених температур води відбуваються у м'язах та дещо повільніше у печінці. Проте варто підкреслити важливість цього процесу саме в печінці, оскільки біоенергетичні реакції у м'язах спрямовані на забезпечення більшою мірою рухової активності риб [208]. Генерування ж енергії у гепатоцитах спрямоване на підтримання більшості фізіологічних процесів організму.

В результаті наших досліджень встановлено, що температура води 26°C спричинила первинне зниження величини коефіцієнта у всіх тканинах окуня. У м'язах та зябрах мінімальна величина ІФ була за температури 34°C (у 1,32 та 1,39 раза відповідно менше від контролю), а у печінці окуня в діапазоні

температур 26–34°C спостерігалось вірогідне зростання ІФ, що за максимальної температури становило 2,96 (у 1,75 раза вище за контроль) (рис. 3.19). Варто припустити, що найбільш інтенсивно процеси фосфорилювання при пристосуванні окуня до підвищеної температури води відбуваються у печінці. Проте дія несприятливого чинника часто призводить до їх роз'єднання із мітохондріальним диханням, що проявляється у зміні шляхів генерування енергії [20, 38, 42].

Щодо плітки, то зміна величини цього коефіцієнта у її тканинах відбувається подібно до окуня. Температурний режим 26°C стимулював зниження рівня ІФ у зябрах та печінці плітки в 1,38 та 1,41 раза відповідно щодо контрольної величини (рис. 3.19). З огляду на те, що контрольна температура (24°C) була постійною, а всі наступні зазнавали коливань протягом природного фотоперіоду, то відповідні зміни можуть бути адаптивною реакцією плітки на астатичність температурного режиму. Якщо припускати розвиток стрес реакції за згаданих умов, то тут має місце стадія інгібування, оскільки величина показника вірогідно зменшується. Надалі у м'язах цього виду можна зафіксувати стадію резистентності, оскільки спостерігається стрімке підвищення рівня ІФ в напрямку зростання температури, що за 34°C був вищим за контроль у 1,65 раза (рис. 3.19). Це може бути наслідком посиленого фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів у м'язах плітки [21].

Для більш глибокого розуміння процесів енергетичного обміну обраховують також коефіцієнт порівняння (КП), що показує співвідношення прямої і зворотної реакції перетворення АДФ [123]. Величина цього коефіцієнта свідчить про зміни у функціонуванні аденілатної системи, адже прямо залежить як від кількості високоенергетичного фосфату (АТФ) так і від вмісту низькоенергетичного фосфату (АМФ) [7, 69].

У м'язах та зябрах коропа було встановлено вірогідне зниження величини КП за температури 26°C у 1,76 та 1,57 раза відповідно щодо контролю (рис. 3.20). За температури 28°C відмічено підвищення величини цього показника,

проте воно залишилось нижчим від контролю у м'язах і у зябрах на 14,7 та 6,4% відповідно. У печінці ж коропа за температур 28 та 30°C величина КП незначно зросла (на 7,7 та 7,6% відносно контролю), а за максимальної температури знизилось у 1,15 раза щодо контролю (рис. 3.20). Очевидно, що із підвищенням температури у досліджених органах коропа, подібним чином, спостерігається сповільнення прямої реакції перетворення АДФ, що протікає з перевагою розпаду АТФ над його синтезом [7, 10]. Тривала дія подібного несприятливого чинника може призвести до граничної межі енергетичного голодування в організмі коропа.

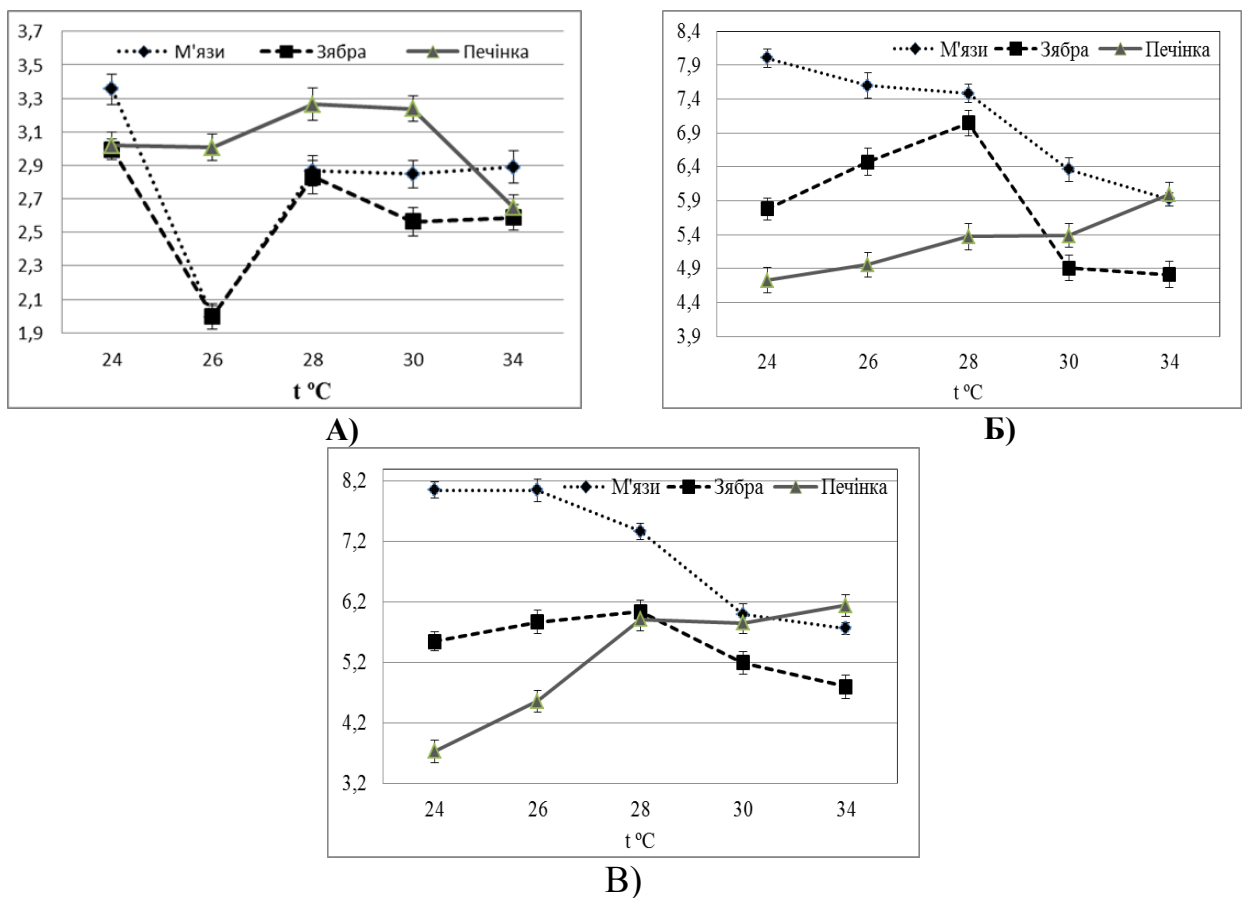


Рис. 3.20. Динаміка величини коефіцієнта порівняння в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

За температури 34°C відмічено мінімальну величину цього показника у м'язах окуня – 5,9, що є у 1,35 раза менше від контролю (рис. 3.20). У зябрах за температури води 28°C відмічено підвищення величини показника у 1,22, та подальше його зниження у з підвищенням температури. Печінка окуня

характеризується зростанням КП (у 1,25 раза вище контролю при 34°C) за дії підвищеної температури води.

Очевидно, що із зростанням температури води у м'язах та зябрах окуня реакції гідролізу АТФ переважають над її ресинтезом, а також пригнічується фосфорилування низькоенергетичного фосфату (АМФ) [69, 208]. Це прямо вказує на низьку інтенсивність енергогенеруючих процесів в організмі окуня, що в подальшому може спричинити негативні наслідки.

Щодо плітки, то в м'язах зазначеного виду зафіксовано зниження величини КП за максимальної температури у 1,40 раза відносно контролю. У зябрах КП при підвищенні температури до 28°C зростав, проте надалі в напрямку підвищення температурного режиму до 34°C спостерігалась тенденція до зниження величини коефіцієнта (рис. 3.20). У печінці плітки зафіксовано зростання величини КП у 1,66 раза щодо контролю за максимальної температури. Зазначені зміни підтверджують той факт, що аклімація плітки до дії підвищеної температури води більшою мірою відбувається за рахунок активації енергогенеруючих процесів у гепатоцитах.

Енергетичний потенціал клітини (ЕП) також важливий критерій при дослідженні біоенергетичного стану організму [123]. Цей показник свідчить, у певній мірі, про швидкість мітохондріального дихання в тканинах організму [16, 97]. Процес синтезу АТФ залежить від енергетичного статусу клітини, який, у свою чергу, знаходить своє вираження у кількісному співвідношенні АТФ/АДФ. При зростанні потреб клітини в енергії підвищується концентрація АДФ і величина цього співвідношення знижується. Це супроводжується активацією тканинного дихання і, відповідно, окиснювального фосфорилування [69, 112, 123].

В результаті дослідження було встановлено, що у м'язах та печінці коропа мінімальна величина ЕП була за температури 26°C (на 45% меншим за контроль), а у зябрах при 28°C (на 25% меншим за контроль) (рис. 3.21). Подальший розвиток величини цього показника у тканинах відбувався подібно до динаміки ІФ. Так, у м'язах коропа в діапазоні температур 28–34°C було

зафіксовано тенденцію до зростання ЕП, який за максимальної температури становив 1,55, що є близьким до контролю. У печінці коропа незначне зростання величини ЕП спостерігалось за температур 28 та 30°C, проте порівняно із контролем такі зміни слабо виражені, як і величина ІФ. Можна дійти висновку, що за дії підвищеної температури води у тканинах коропа запускаються компенсаторні механізми, спрямовані на відновлення енергетичного гомеостазу організму, про що свідчать отримані данні енергетичного потенціалу тканин коропа [5, 61, 67].

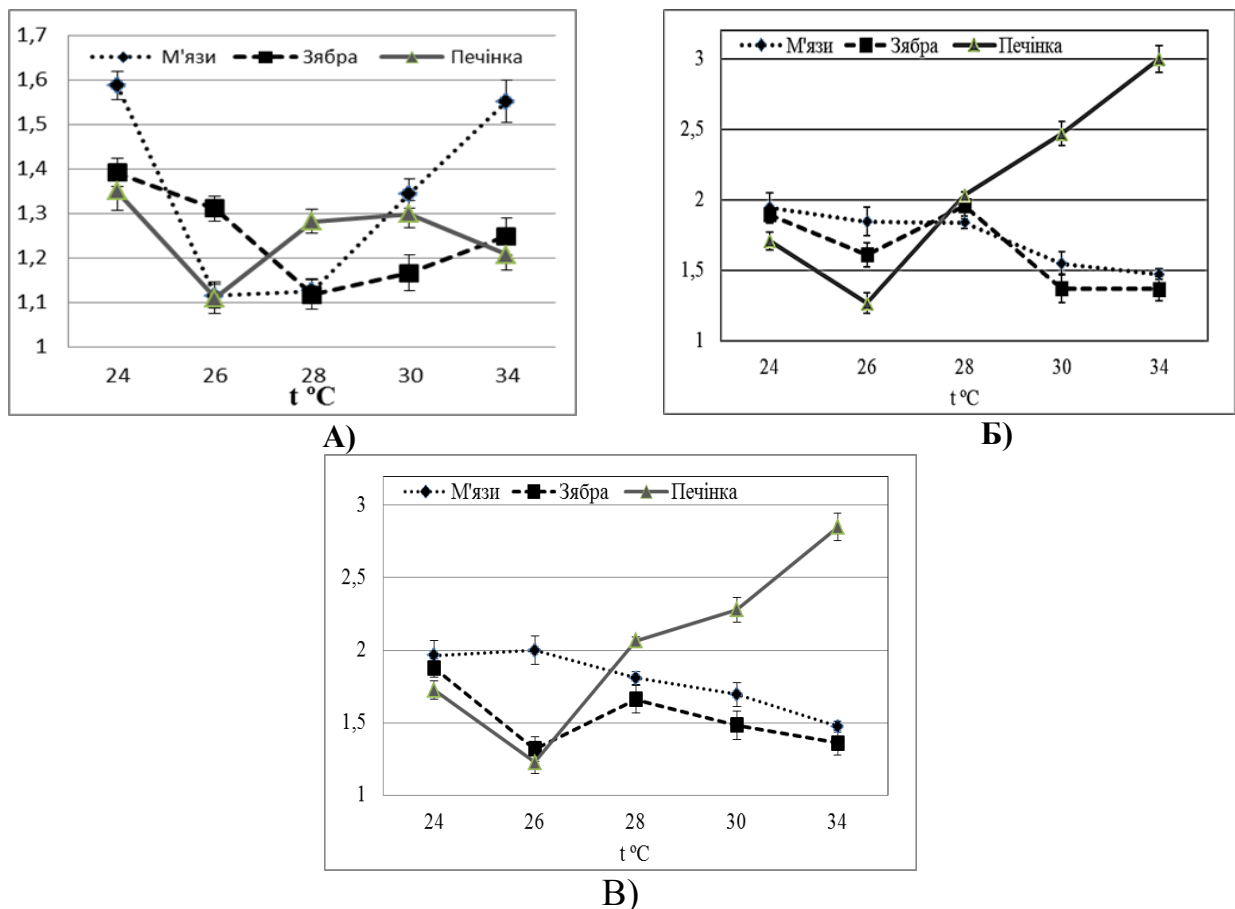


Рис. 3.21. Динаміка величини енергетичного потенціалу в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо окуня, то величина ЕП у його тканинах також корелює із динамікою ІФ. А точніше, у м'язах та зябрах мінімальна величина ЕП була за температури води 34°C (у 1,31 та 1,38 раза відповідно менше від контролю) (рис. 3.21). Як і у випадку з ІФ, у печінці окуня в діапазоні температур 26–34°C спостерігалось вірогідне зростання величини ЕП, що за максимальної температури становило

2,99 (у 1,76 раза вище за контроль). Очевидно у м'язах та зябрах зазначеного виду виникає підвищена потреба у АТФ, що виражається у зменшенні ЕП та активації окиснювального фосфорилування. Також величина ЕП в печінці окуня може свідчити про знижений синтез АДФ, що негативно впливає на забезпечення мітохондріального дихання в цій тканині.

У м'язах та зябрах плітки величина цього показника, як і в окуня, вірогідно знижується із підвищенням температури води. Очевидно це викликано підвищеним синтезом АДФ. Зазначені зміни можуть бути викликані пригніченням в організмі плітки синтезу високоенергетичного фосфату, попередником якого є АДФ. Також це вказує на енергетичне виснаження тканин цього виду. У печінці плітки зафіксовано підвищення величина ЕП у 1,64 раза щодо контролю за температури води 34°C. Це свідчить про посилене фосфорилування АДФ та, як результат, утворення АТФ.

Термодинамічний контроль дихання (ТКД) – це показник, що вказує на залежність швидкості мітохондріального дихання не від концентрації окремих компонентів аденілнуклеотидної системи, а від стану фосфорилування [69, 123]. Обернено до енергетичного потенціалу, інтенсивність дихання підвищується при зменшенні ТКД [10].

Встановлено, що у м'язах коропа величина ТКД за температури 34°C була меншою за контроль на 35%. При цьому, початкове зниження величини показника спостерігалось вже за температури 26°C (на 32% менше від контролю) (рис. 3.22). У зябрах коропа величина ТДК також була найменшою за максимальної температури – 1,09, що на 21% менше за контроль. Цікавим є факт, що після зменшення ТДК у печінці коропа у 1,4 раза щодо контролю при 28°C, в подальшому спостерігалось зростання величини цього показника до 1,52, що є на 8,6% більше за контроль. З отриманих результатів можна дійти висновку, що метаболізм аденілатів, а саме функціонування фосфорилування у гепатоцитах коропа, більш адаптоване до підвищення температури навколишнього середовища, ніж в інших тканинах [13, 67]. Це проявляється у зменшенні інтенсивності клітинного дихання в цій тканині. У м'язах та зябрах

плітки відмічено активацію процесів клітинного дихання, що є адаптивною реакцією на підвищену потребу в енергоресурсах.

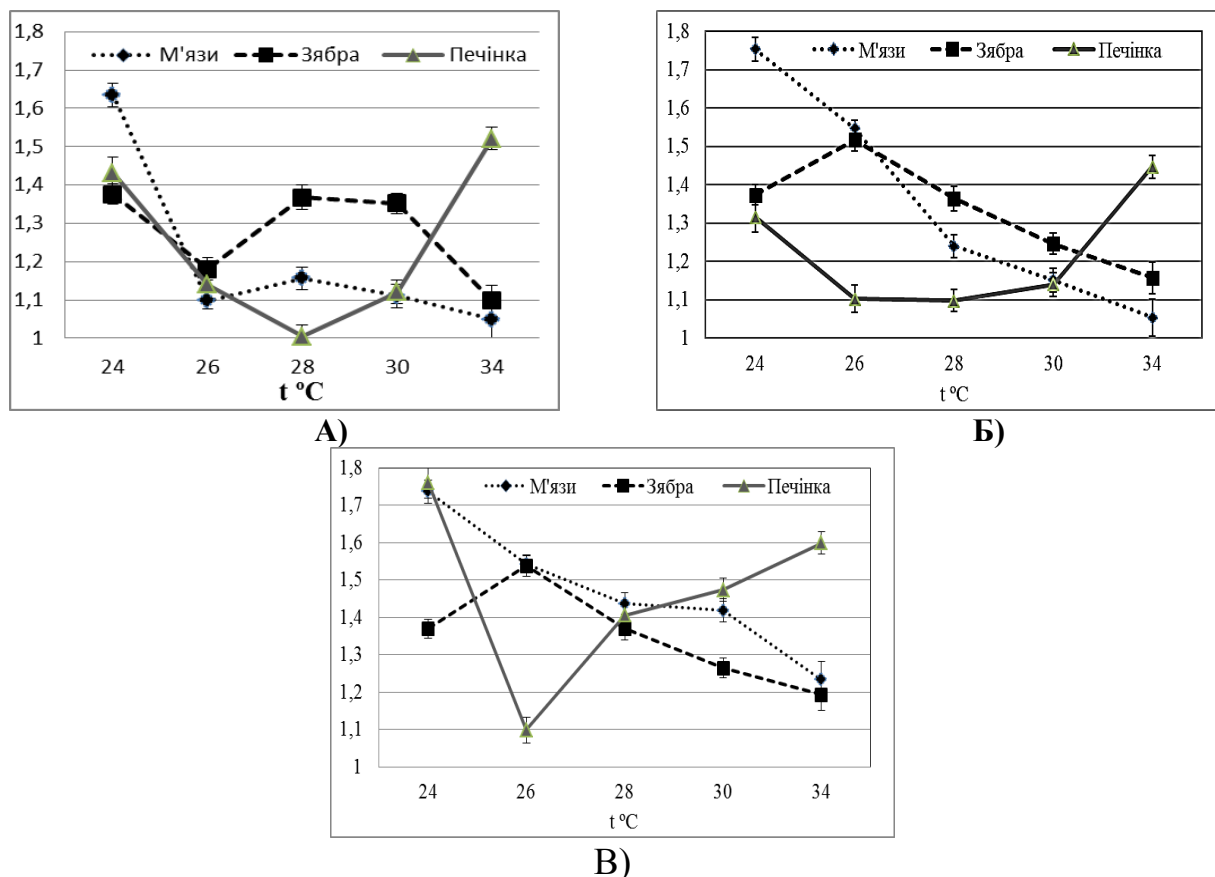


Рис. 3.22. Динаміка величини термодинамічного контролю дихання в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо окуня, то в його м'язах величина ТКД за температури води 34°C була меншою за контроль на 40% (рис. 3.22). У зябрах після первинного підвищення величини показника при температурі води 26°C, в подальшому спостерігалось його зниження, що за максимальної температури становило 1,15, тобто менше за контроль у 1,19 раза. У печінці окуня за таких умов зафіксовано параболічну залежність розвитку величини ТКД в бік первинного зменшення коефіцієнту та подальше його підвищення, що може вказувати на адаптивну реакцію організму на задані умови. На підставі отриманих результатів можна дійти висновку, що метаболізм аденілатів, а саме функціонування фосфорилування та мітохондріального дихання у гепатоцитах

окуня, як і в коропа є більш адаптованим до підвищення температури води, ніж у клітинах інших тканин [38, 208].

У м'язах та зябрах плітки зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження величини ТДК у напрямку зростання температури води (рис. 3.22), що свідчить про активацію клітинного дихання для забезпечення енергетичного гомеостазу організму. У гепатоцитах зазначеного виду після стрімкого зниження ТДК за температури 26°C, надалі спостерігається поступове підвищення величини показника, що вказує на сповільнення клітинного дихання, та переключення метаболізму печінки на анаеробних шлях.

3.5.Зміна вмісту енергетичних субстратів у тканинах риб за дії підвищеної температури води.

3.5.1. Вміст глікогену у печінці риб за дії підвищеної температури води

Як відомо, при адаптації риб до підвищеної температури води визначальним критерієм є кількість енергії, що утворюється в процесі енергетичного обміну. При цьому частина енергії використовується рибами відразу, а частина зберігається у вигляді запасних поживних речовин, зокрема у формі глікогену, який накопичується у печінці та м'язах [177, 178, 210]. Саме вміст глікогену є одним із найважливіших показників обміну речовин та одним із основних джерел енергії у риб [211].

Щодо вмісту глікогену, то його показники в усіх дослідних видів риб відрізняються. За температури 28°C у коропа спостерігається вірогідне збільшення кількості глікогену у печінці у 4,2 раза вище контролю (рис. 3.23).

В подальшому, при наступному зростанні температури на 2 та 4°C відмічена незначна його утилізація. За температури 34°C вміст глікогену був вищим щодо контрольної величини у 2,81 раза (рис. 3.23). Ці зміни можуть бути спричинені підсиленням глікогенезу у печінці коропа внаслідок підвищення температури [174]. Проте, за ще більш високих температур для забезпечення енергетичного балансу в організмі риб виникає потреба у більшій

кількості глюкози. Одним із шляхів її утворення є глікогеноліз, який, вірогідно, має місце, починаючи з 30°C. У подальшому за цих умов рівновага між утворенням глікогену і його утилізацією може порушитися, що призведе до негативних для організму риб наслідків [188, 189].

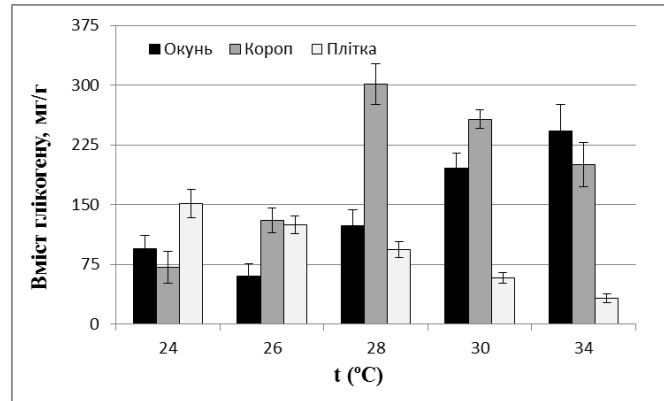


Рис. 3.23. Вміст глікогену у печінці риб за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

В печінці окуня відмічено початкове зниження кількості глікогену за температури 26°C у 1,54 раза менше контролю, та наступне підвищення його вмісту до 241 мг/г при 34°C, що є у 3,39 раза вище від контрольної величини (рис. 3.23). Очевидно, за настання стресових умов у печінці окуня відбувається накопичення глікогену, що може бути результатом активації глікогенезу. Не виключено також, що підвищена температура може інгібувати ферментативну систему глікогенолізу у печінці окуня, що і відображається у неспроможності ним здійснювати утилізацію цього енергетичного субстрату [178, 182, 188].

У печінці плітки зафіксовано стрімке зниження вмісту глікогену по мірі зростання температури, що за максимальної експозиції становило різницю із контролем у 4,71 раза (рис. 3.23). Очевидно, організм плітки активно залучає глікоген в процеси енергетичного обміну. Також вірогідно що процеси глікогенезу в її печінці інгібуються підвищеною температурою води, оскільки вміст глікогену пропорційно знижується. В подальшому, за таких умов в організмі плітки виникне дефіцит глікогену та продукту його розщеплення – глюкози, що значно погіршить біоенергетичний стан її організму.

3.5.2. Вміст загальних білків у тканинах риб за дії підвищеної температури води

Встановлено, що зміна температурного режиму водойми безпосередньо впливає на біосинтетичні процеси в організмі риб. Однак дослідженні тканини організму піддаються дії цього чинника у різній мірі.

Зафіксовано підвищення кількості білків у м'язах коропа та окуня по мірі зростання температури води, що за 34 °C було вище за контроль у 1,35 та 1,33 раза відповідно (рис. 3.24). Очевидно, що підвищена температура води активує біосинтетичні процеси у зазначених тканинах риб, що корелює із законом Вант-Гоффа і Арреніуса. Не виключено також, що подібне накопичення білків у м'язах коропа та окуня може бути наслідком реорганізації білкового обміну, оскільки підвищення температури води до 34°C може спричинювати зміну конформаційної структури білків. Також це може бути механізмом ізоляції від несприятливої дії зовнішнього середовища [47, 64].

У м'язах плітки зафіксовано зниження вмісту білків у 1,57 раза щодо контролю за максимальної температури води (рис. 3.24). За подібних екстремальних умов плітка переставала житися, що могло відобразитись на зменшенні кількості білків. Також, очевидно у міоцитах зазначений субстрат використовується на процеси енергозабезпечення. Не виключено, що підвищена температура води могла здійснювати інгібуючий вплив на біосинтетичні процеси у м'язах, що при тривалій дії несприятливого чинника призведе до виснаження організму.

У зябрах коропа зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) підвищення кількості білків в діапазоні температури 28–34°C (в середньому на 34%) (рис. 3.24). Очевидно, що на цьому температурному проміжку відбулася адаптація респіраторного апарату коропа до дії несприятливого чинника. Також причиною таких змін може бути посилення біоенергетичних процесів у зябрах коропа за дії підвищеної температури води, внаслідок чого білки накопичуються як запасний енергетичний матеріал.

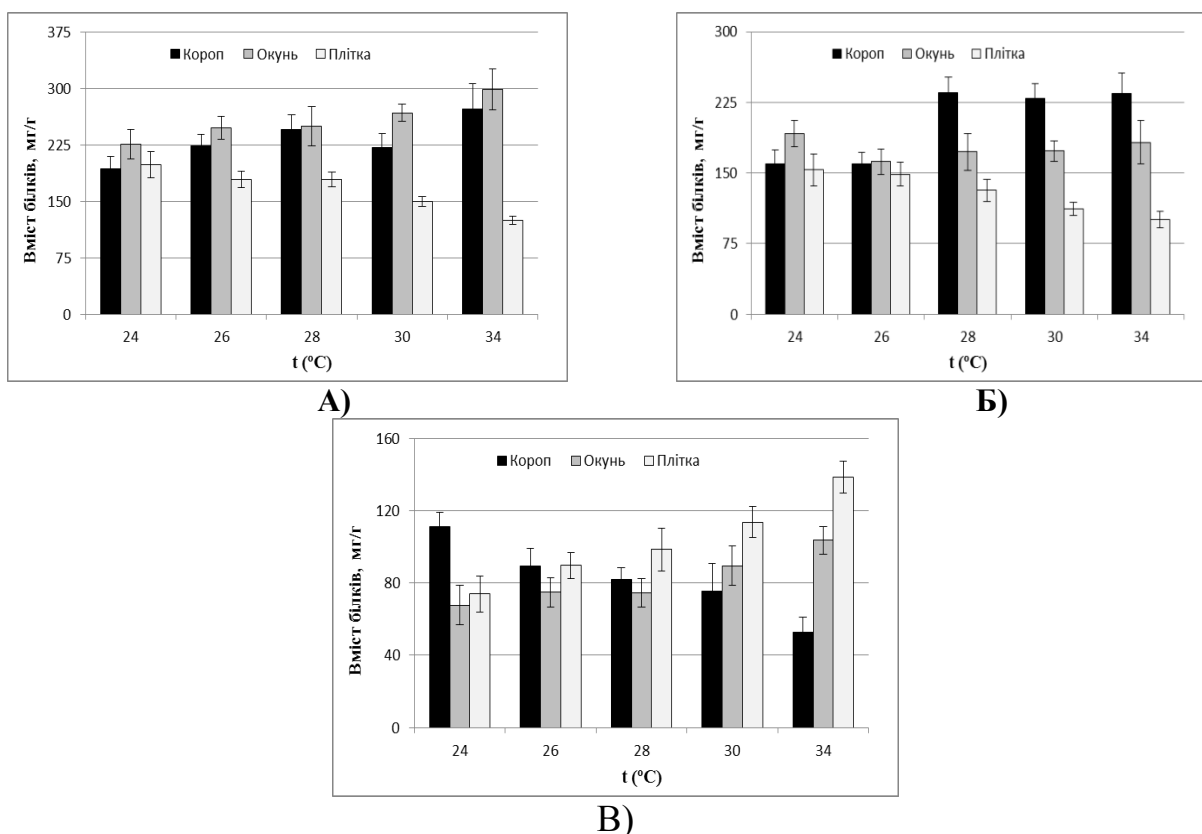


Рис. 3.24. Вміст білків в м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) риб за дії підвищеної температури води, ($M \pm m$, $n=5$).

В окуня встановлено незначне зменшення кількості білків в зябрах за температурного режиму 26°C, проте при подальшому підвищенні температури до 34°C величина зазначеного критерію була на рівні контролю (рис. 3.24). Очевидно, температурний чинник практично не впливав на біосинтетичні процеси у клітинах зябер окуня [200].

У плітки відмічено стрімке пригнічення біосинтетичних процесів у зябрах, що підтверджує вірогідне поступове зниження вмісту білків у 1,71 раза щодо контролю за максимальної експозиції. Не виключено, що швидкість використання білків набагато перевищувала швидкість їх синтезу. Відомо, що за подібно нетипових умов риби можуть активно залучати амінокислоти у процеси енергозабезпечення. Підвищена температура води могла спричинити інтенсифікацію амінокислотного обміну у зябрах плітки, проте з переважанням катаболічної гілки метаболізму над анаболічною [11].

За умов експерименту встановлено вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження вмісту загальних білків у печінці коропа в 1,96 раза за максимальної температури води, та підвищення кількості зазначених органічних сполук у гепатоцитах окуня та плітки в 1,63 та 1,89 раза відповідно щодо контролю за згаданої температури води (рис. 3.24). Відповідні зміни свідчать про активацію катаболізму білків у печінці коропа, а також про підсилення біосинтетичних процесів у гепатоцитах окуня та плітки. Варто відмітити, що оскільки вміст глікогену в печінці плітки вірогідно знижується у напрямку зростання температури води, то очевидно, що саме цей субстрат більшою мірою використовується на процеси енергозабезпечення тканин цього виду. В окуня незначне зростання глікогену і білків може вказувати на ускладнення процесів катаболізму цих речовин, або ж на залучення більшою мірою ліпідів на забезпечення адаптивних процесів.

Таким чином, за результатами дослідження встановлено, що первинна реакція у досліджених видів риб на дію підвищеної температури води суттєво відрізняється. У коропа знижується рівень тиреоїдних гормонів у крові, що може супроводжуватися зменшенням генерування енергії внаслідок зниження активності окисно-відновних реакцій. У плітки ж навпаки концентрація Т4 та Т3 зростає в напрямку підвищення температури води, що свідчить про активацію обмінних процесів на протидію створеному чиннику. В окуня зміни за цим критерієм виражені меншою мірою.

Необхідно зазначити, що вірогідне зниження рівня глюкози в плазмі крові плітки, можливо, пов'язане з використанням цього субстрату на процеси енергозабезпечення адаптації цього виду до умов експерименту. Окрім цього підвищення концентрації кортизолу в її крові може свідчити про розвиток стресового стану. За активністю ферментів енергетичного обміну показано, що організм коропа та окуня активніше залучає аеробні процеси енергозабезпечення на пристосування до температурних умов, тоді як в організмі плітки зафіксовано розвиток гіпоксичного стану тканин.

Варто відмітити також, що підвищення температури води спричиняє реорганізацію компонентів аденілатного пулу тканин досліджених видів риб. У коропа функціонування процесів окиснювального фосфорилювання практично не порушується із підвищенням температури води, тоді як організм окуня та плітки в багатьох випадках залучають менш ефективне субстратне фосфорилювання. При чому, в окремих тканинах плітки був відмічений розвиток гіпоенергетичного стану.

Цікавим є також, що за створених умов короп та окунь накопичують глікоген у печінці, що може бути результатом активації глікогенезу. Не виключено також, що підвищена температура може інгібувати ферментативну систему процесу глікогенолізу в цих видів, що супроводжується накопиченням цього субстрату. Варто відмітити стрімке зменшення кількості глікогену в печінці плітки, що може бути наслідком включення цього вуглеводу в процеси енергетичного обміну. Отримані результати можуть бути використані для розширення розуміння екологічної пластичності зазначених видів риб в умовах мінливого навколишнього середовища.

РОЗДІЛ 4 ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ ВОДИ

У клітинах живих організмів постійно протікають процеси синтезу певних речовин, розкладання складних з'єднань до більш простіших, дихання тощо. Це обов'язкова умова життєдіяльності, коли витрачаються одні речовини та утворюються інші [11, 17]. Частина новоутворених молекул залишається в клітині, частина транспортується в інші клітини або виводиться в навколишнє середовище. Для забезпечення процесів життєдіяльності необхідне постійне надходження вихідних складових та виведення з клітин побічних продуктів, що утворилися в процесі біохімічних реакцій [4]. Транспорт молекул здійснюється практично у всіх тканинах організму. Перед тим, як потрапити в клітину або вийти з неї, всі речовини повинні проникнути через плазмолему, що відокремлює клітину від зовнішнього середовища [7].

Процеси обміну речовин на мембранах у гідробіонтів тісно пов'язані з хімічним складом води [34]. Склад різних солей впливає на те, які речовини і в яких кількостях будуть надходити в клітину або виходити з неї. Продукти, необхідні для життєдіяльності організму, зазвичай транспортуються через мембрану у вигляді заряджених йонів. Транспорт може здійснюватися активно, з використанням багатих на енергію з'єднань, або пасивно, за рахунок власної кінетичної енергії йонів [4]. Пасивний транспорт, тобто дифузія йонів через мембрану, здійснюється з різною швидкістю. Відносна здатність різних йонів дифундувати через мембрану визначає коефіцієнт проникності. Простіше від інших вільно проходить крізь мембрани йони K^+ , тому значення коефіцієнту проникності для калію умовно приймають за 1.

Швидкість проникнення йонів через мембрану залежить також від різниці його концентрацій по обидві сторони мембрани. Чим більше різниця концентрацій, тим більше йонів дифундує в сторону меншого їх вмісту. Крім дифузії, що відбувається за різницею концентрацій, існує активний транспорт

йонів, при якому рух здійснюється за рахунок різниці електрохімічних потенціалів через спеціальні ділянки мембрани. Цей рух може здійснюватися і від меншої концентрації до більшої. Рухильною силою процесу в цьому випадку є запас енергії у вигляді молекул АТФ [212].

Експериментально встановлено, що при підвищенні концентрації Na^+ у воді відповідно збільшується його вміст у крові риб, а вміст K^+ зменшується. При підвищенні концентрації калію відбувається накопичення в організмі натрію. Тому, вірогідно йони калію здійснюють непрямий токсичний вплив на організм риб. Накопичення у тканинах риб йонів натрію диференціює залежно від статі риби [212].

При поглинанні клітинами йонів Na^+ витрачається велика кількість енергії. При асиміляції організмом Na^+ відбувається його заміщення на NH_4^+ . Амоній може утворюватись в організмі з органічних азотовмісних сполук. Таким чином, підвищене депонування натрію в організм риб може призводити до порушення білкового обміну [23].

4.1. Зміна біохімічних параметрів плазми крові риб за дії підвищеної мінералізації води

4.1.1. Гормональний фон у плазмі крові риб та участь гормонів у регуляції процесів енергетичного обміну в їх організмі за підвищення мінералізації води

При проведенні експериментів із визначення впливу підвищеної мінералізації води на фізіологічний стан риб контролем слугувала вода з р. Рось, мінералізація якої становила 520 мг/дм^3 .

Результати наших досліджень показали, що за дії підвищеної мінералізації води вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові риб змінюється видоспецифічно. Так, вміст трийодтироніну у плазмі крові усіх досліджуваних видів риб в умовах підвищеної мінералізації води змінюється практично пропорційно її рівням. Так, за концентрації солей $1,0 \text{ г/дм}^3$ відмічено зниження вмісту Т3 у крові коропа, окуня та плітки відповідно у 2,23, 1,83 та 3,27 рази

щодо $0,5 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.1). По мірі підвищення мінералізації вміст гормону у всіх видів зростав та наближався до контрольних значень. При максимальній мінералізації ($2,0 \text{ г/дм}^3$) рівень ТЗ досягав контрольних величин (для коропа) або був вищим за контроль у 1,18 та 1,99 рази у окуня та плітки.

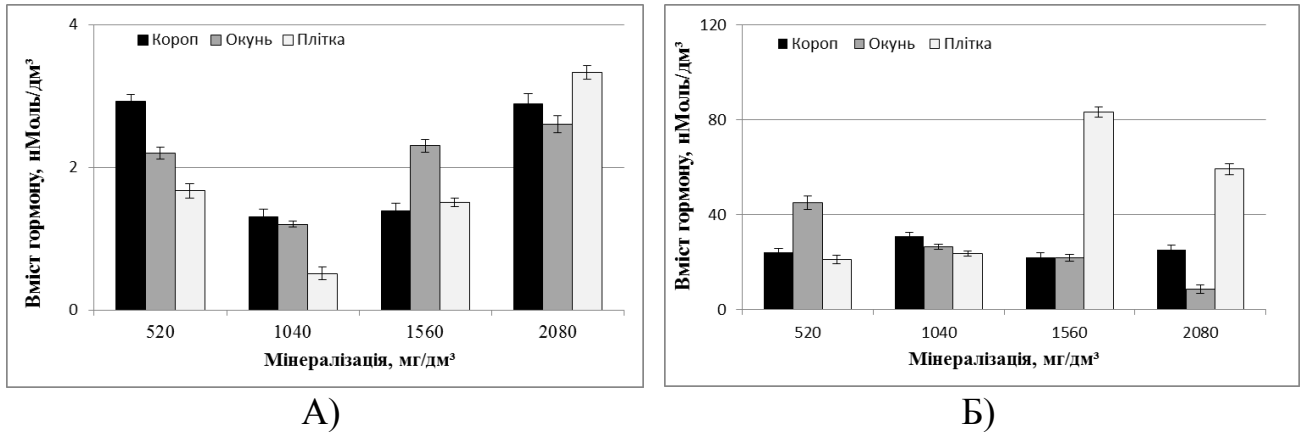


Рис. 4.1. Вміст трийодтироніну (А) та тироксину (Б) у плазмі крові коропа, окуня та плітки за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Оскільки при мінімальному зростанні мінералізації води відбуваються істотні зміни вмісту гормону, а саме його зниження, а з подальшим підвищенням мінералізації у всіх досліджуваних видів риб рівень ТЗ закономірно зростає, то можна стверджувати про характер розвитку адаптивних реакції організму до несприятливих чинників середовища [163]. Окрім того, зростання вмісту ТЗ у окуня та плітки по мірі підвищення мінералізації викликає активацію енергетичного обміну, спрямованої на забезпечення осморегуляції [49, 170]. Короп же, очевидно, легше пристосовується до змін мінералізації в певних межах, ніж окунь та плітка, про що і свідчить практично рівний при $2,0$ та $0,5 \text{ г/дм}^3$ вміст ТЗ у плазмі його крові.

Щодо вмісту Т4, то за цим показником досліджувані риби реагували по-різному на дію змін мінералізації води. Так, у коропа значних змін вмісту Т4 в їх крові за дії підвищеної мінералізації не спостерігалось. В окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту Т4 до 8 нМоль/дм^3 за мінералізації $2,0 \text{ г/дм}^3$, що у 5,62 рази менше за контроль (рис. 4.1). У плітки ж вміст гормону суттєво

підвищувався, та максимальним був за мінералізації $1,5 \text{ г/дм}^3$ – 83 нМоль/дм^3 , що у 3,95 рази вище від контролю (рис. 4.1).

Відсутність суттєвих змін вмісту тироксину у коропа може свідчити про те, що впродовж 14-ти діб риби повністю адаптувалися до зростання мінералізації води. Окунь та плітка виявилися більш чутливими до змін величини цього чинника [19]. Зниження вмісту T4 у плазмі крові окуня поряд із підвищенням вмісту T3 може бути викликано здатністю цих гормонів до взаємозаміщення з метою підтримання гомеостазу на відповідному рівні [19, 142]. Також відомо, що зниження вмісту тиреоїдних гормонів великою мірою впливає на ферментативну активність дихального ланцюга, а саме зумовлює його пригнічення. Проте, тривала дія несприятливого чинника в подальшому може спричинити порушення співвідношення між генеруванням енергії та її витратою. Окрім цього, відомо, що саме T3 у риб бере участь у регулюванні швидкості споживання кисню тканинами. Тому, видоспецифічний рівень цього гормону може пояснити різницю у реакціях риб на дію підвищеної мінералізації води. Так, реакція плітки може бути наслідком збереження енергетичних ресурсів організму в ускладнених умовах існування.

Сумарний вміст (T3+T4) зберігає закономірності, описані для T4 (рис. 4.2).

Відомо, що кортизол у водяних тварин поряд із регуляцією енергетичного обміну коригує водно-сольовий обмін [35]. Нами було встановлено, що за вмістом кортизолу короп та плітка на підвищення мінералізації реагують однаково (рис. 4.2). А саме, з підвищенням мінералізації води з $0,5$ до $2,0 \text{ г/дм}^3$ зафіксовано зростання вмісту кортизолу у крові як у коропа, так і у плітки у 3,13 та 3,87 рази відповідно (рис. 4.2). Очевидно, в організмі цих видів розвиваються адаптивні реакція, які супроводжується мобілізацією енергетичних ресурсів [149]. Це дозволяє їм заощаджувати енергетичні запаси, та дає змогу повернути організм у стан гомеостазу після дії чинника. В окуня відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту кортизолу в плазмі крові по мірі

зростання мінералізації. Так, за мінералізації $2,0 \text{ г/дм}^3$ його вміст набув вкрай низького значення – 67 нМоль/дм^3 (у 12,98 рази менше за контроль).

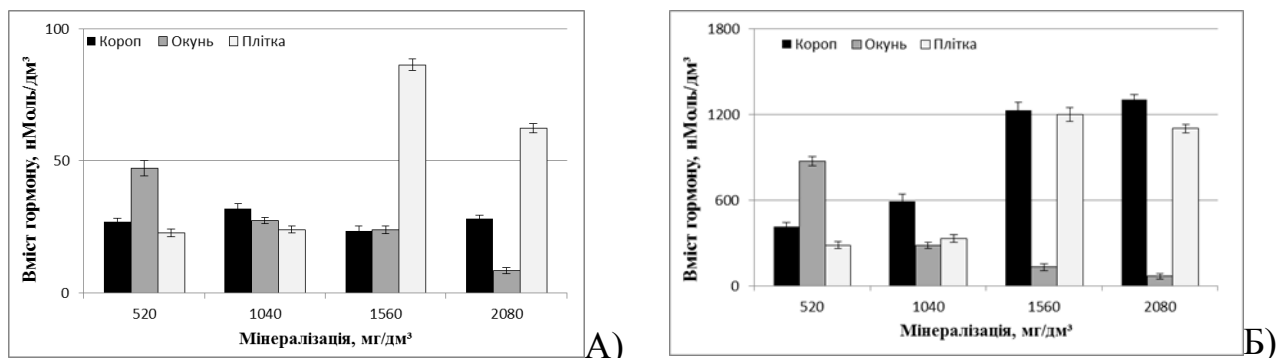


Рис. 4.2. Сумарний вміст (Т3+Т4) (А) та кортизолу (Б) у плазмі крові коропа, окуня та плітки за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Очевидно, що окунь дуже складно пристосовується до значного підвищення мінералізації води. Також вміст кортизолу у цьому випадку корелює із рівнем тиреоїдних гормонів, оскільки він регулює перетворення тироксину до більш активного трийодтироніну, тим самим активує процеси, спрямовані на зниження негативної дії тих чи інших чинників [35, 142]. Це чітко проілюстровано на адаптивній реакції окуня, коли зниження вмісту кортизолу могло стати причиною активного конвертування Т4 у Т3. Наслідком таких змін може бути посилення окислювальних процесів за безпосередньої участі трийодтироніну та використання енергоресурсів для забезпечення внутрішньотканинного гомеостазу.

4.1.2. Концентрація глюкози в плазмі крові риб за дії підвищеної мінералізації води.

Відомо, що рівень глюкози свідчить про наявність порушень у тих чи інших обмінних процесах, а також про розвиток адаптивних компенсаторних механізмів на протидію різним несприятливим чинникам [19, 148].

В результаті дослідження було встановлено, що на підвищення мінералізації води всі досліджувані види риб реагували по-різному. За згаданих умов у плазмі крові коропа при мінералізації $1,0 \text{ г/дм}^3$ відмічено підвищення

вмісту глюкози до $10,5 \text{ мМоль/дм}^3$, що у 2,0 рази вище за контрольні значення (рис. 4.3). З подальшим зростанням мінералізації вміст глюкози в крові цього виду знижувався, та за максимальної мінералізації води ($2,0 \text{ г/дм}^3$) досягав контролю. Очевидно, висока концентрація мінеральних сполук стимулює в організмі коропа підвищену утилізацію глюкози з крові в процесі осморегуляції, що також підтверджується змінами вмісту ТЗ.

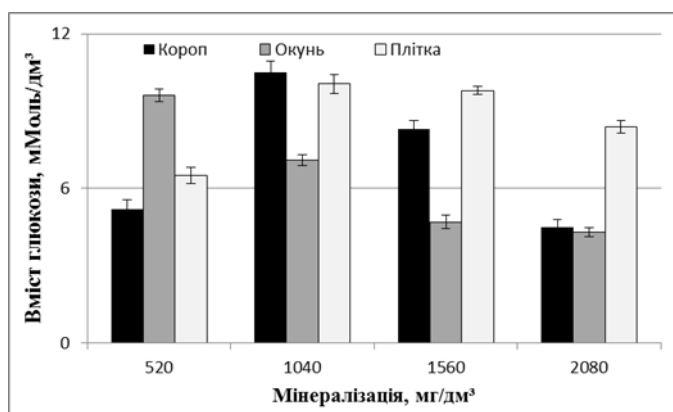


Рис. 4.3. Вміст глюкози у плазмі крові коропа, окуня та плітки за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

У плазмі крові окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту глюкози у крові за мінералізації $2,0 \text{ г/дм}^3$ у 2,23 рази (рис. 4.3). Причиною таких змін може бути використання глюкози на енергозабезпечення процесів, пов'язаних з підтримкою градієнту концентрації йонів у тканинах та збереження внутрішньоклітинного осмотичного балансу [26]. Також, судячи із величин вмісту тиреоїдних гормонів, відповідна реакція може бути зумовлена використанням глюкози в результаті активації метаболізму в організмі досліджених риб [49].

У плітки ж спостерігається параболічна залежність між вмістом глюкози та зміною мінералізації води, проте, на відміну від коропа, за максимальної мінералізації її вміст у плазмі крові був вищим за контроль на 22,62% (рис. 4.3). Встановлено, що плітка активно залучає глюкозу в процеси обміну речовин для врегулювання осмотичного балансу організму [49].

4.1.3. Активність ферментів енергетичного обміну у крові риб за дії підвищеної мінералізації води.

Не менш важливим показником адаптації риб до різних нетипових чинників є зміни активності окремих ферментів. Зокрема, за різною мінералізацією води нами було досліджено активність ферментів енергетичного обміну, а саме СДГ та ЛДГ. Ці ферменти вважаються клітинними та неспецифічними, оскільки в нормі локалізуються у певних тканинах організму, проте можуть надходити у кров [73, 76]. Механізм зростання активності зазначених ферментів у плазмі крові пояснюється елімінацією ферменту із пошкоджених клітин, збільшенням проникності клітинних мембран, порушенням метаболічних процесів, посиленням синтезом ферментів у клітинах та підвищенням каталітичної активності ферментів [77].

Встановлено, що за мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ у плазмі крові коропа активність СДГ зростає в 1,41 раза щодо контролю (рис. 4.4). Надалі спостерігалась тенденція до зниження її активності, а за максимальної мінералізації води ($2,0 \text{ г/дм}^3$) активність СДГ у плазмі крові знизилась щодо контролю в 1,71 раза. Отримані результати свідчать як про пригнічення активності циклу трикарбонових кислот у коропа, так і про можливе ущільнення біологічних мембран внаслідок різкого підвищення концентрації йонів у зовнішньому середовищі, що зменшує інтенсивність надходження ферменту із мітохондрій тканин у плазму крові [18]. Відмічене зниження активності СДГ ймовірно є наслідком інгібування окиснення сукцинату в тканинах та формених елементах крові коропа за умов поступового підвищення мінералізації води, що також підтверджується відповідними змінами активності тиреоїдних гормонів.

В плазмі крові окуня нами зафіксовано концентраційнозалежне підвищення активності СДГ, яка за мінералізації води ($2,0 \text{ г/дм}^3$) була вищою у 1,51 раза відносно контролю.

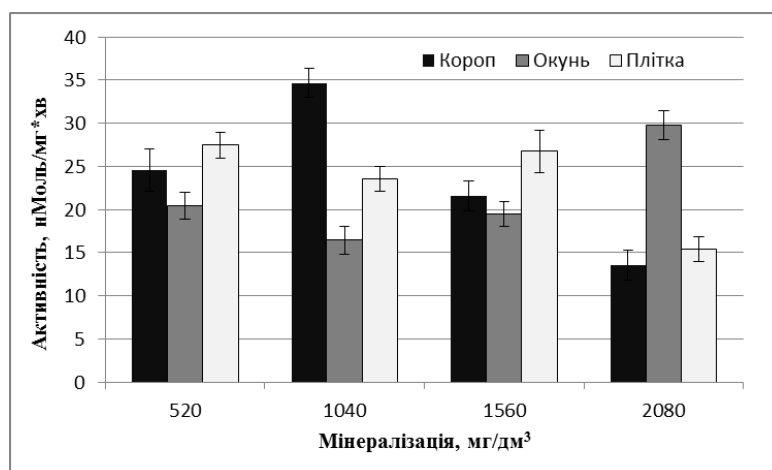


Рис. 4.4. Активність сукцинатдегідрогенази у плазмі крові риб за дії підвищеної мінералізації води ($M \pm m$, $n=5$).

Зазначені зміни варто розглядати як компенсаторний механізм, що забезпечує підтримання функціональної активності дихального ланцюга та його енергетичної функції на належному рівні у тканинах риб в умовах функціонування при підвищеній мінералізації води. Однак, підвищення активності цього ферменту у плазмі крові свідчить про його надходження з мітохондрій клітин тканин, які, в свою чергу, можуть зазнавати структурних змін за активного проникнення йонів із води у тканини [26]. Не виключено, що СДГ транспортувалась у плазму з формених елементів крові.

У плазмі крові плітки відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження активності СДГ у 1,81 раза щодо контролю за максимальної дослідженої мінералізації води. Це може свідчити про пригнічення функціонування циклу трикарбонових кислот, а також про інактивацію процесів дихального ланцюга у тканинах плітки. Можливо, що причиною таких змін може слугувати активація анаеробних процесів в організмі плітки. Вміст глюкози та кортизолу у плазмі крові плітки вказують на деяке порушення гомеостазу організму [55]. За нашими даними видно, що для подолання цього явища та компенсації енергетичних витрат організм плітки залучає низку енергетичних субстратів та компенсаторних механізмів, однак несприятлива дія підвищеної мінералізації води може суттєво ускладнити протікання зазначених процесів.

Вплив абіотичних та антропогенних чинників на організм риб спричиняє реорганізацію не лише аеробних процесів у їх тканинах, але й гліколізу, тим самим визначаючи загальний стан метаболізму. Результати чисельних досліджень доводять, що активність ЛДГ є надійним біомаркером при адаптації риб до чинників середовища. Це дозволяє використовувати цей критерій при діагностиці фізіологічного стану риб також і за умов зміни мінерального складу води.

За дії підвищеної мінералізації води відмічено концентраційнозалежну динаміку змін активності ЛДГ у плазмі крові риб. А саме, у плазмі крові коропа активність ферменту за експозиції $1,0 \text{ г/дм}^3$ незначно інгібувалась в 1,29 раза щодо контролю, та надалі вірогідно ($p \leq 0,05$) зростала у напрямку підвищення мінералізації води (рис. 4.5). Оскільки активність ферменту у тканинах коропа вірогідно знижується за умов експерименту, то варто припустити що надмірне його надходження в кров відбувалось із формених елементів. Це свідчить про гіпоенергетичний стан клітинних компонентів крові коропа та про розвиток у них анаеробних умов. В подальшому це може відобразитись на функціонуванні організму коропа в цілому [26].

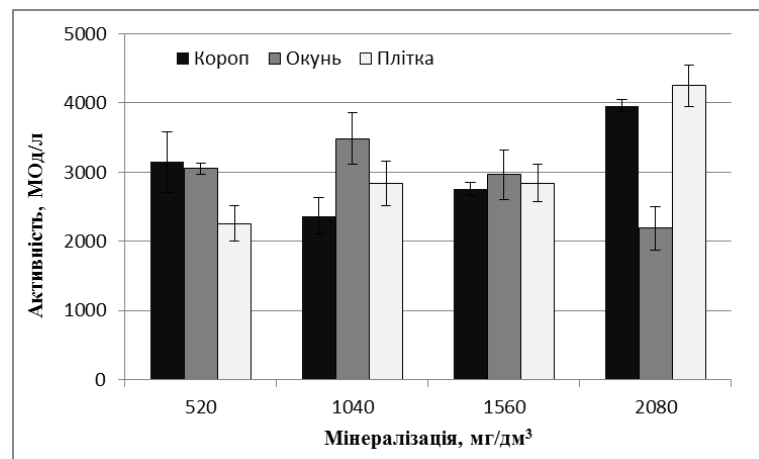


Рис. 4.5. Активність лактатдегідрогенази у плазмі крові риб за дії підвищеної мінералізації води ($M \pm m$, $n=5$).

В окуня активність ЛДГ вірогідно знижувалась у плазмі крові, та за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ була меншою за контроль в 1,39 раза (рис. 4.5). Враховуючи, що у тканинах окуня активність зазначеного ферменту вірогідно

зростала, то зменшення його активності в крові можна пояснити ущільненням біологічних мембран в силу зміни концентрації йонів [18] всередині клітини та назовні, в результаті чого могло сповільнитись надходження ЛДГ у плазму.

Плітка на підвищення мінералізації води реагувала зростанням активності ЛДГ у плазмі крові в 1,93 раза щодо контролю (рис. 4.5). Очевидно, що організм цього виду інтенсивно активує утворення лактату із пірувату, концентрація якого може збільшуватися в крові та спричиняти активацію одного із основних гліколітичних ферментів.

Отже, підвищення мінералізації води спричиняє реорганізацію метаболічних процесів в організмі риб, що також можна діагностувати за активністю окремих ферментів енергетичного обміну у плазмі їх крові [213, 214].

4.2. Ферментативна активність тканин риб в умовах підвищеної мінералізації води.

Активність ферментів енергетичного обміну (лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази) у тканинах риб також великою мірою залежить від змін йонного складу води та є важливими показниками осмотичної регуляції риб. Відомо, що швидкість проникнення йонів через мембрану залежить від різниці їх концентрацій по обидві сторони мембрани. Чим більше різниця концентрацій, тим більше йонів дифундує в бік меншого їх вмісту [18]. Проте подібна дифузії спостерігається рідко. У риб більшою мірою функціонує активний транспорт йонів, при якому рух здійснюється за рахунок різниці електрохімічних потенціалів через спеціальні ділянки мембрани. Цей рух може здійснюватися і від меншої концентрації до більшої [18, 39]. Основним енергетичним ресурсом для цих процесів є запас енергії у молекулах АТФ.

Важливу роль у забезпеченні осморегуляційних процесів у тканинах риб відіграє К, Na-залежна АТФ-аза – фермент із групи транспортних

аденозинтрифосфатаз. Він використовує енергію гідролізу АТФ на транспортування іонів K^+ та Na^+ через мембрану.

Із підвищенням мінералізації води до $1,5 \text{ г/дм}^3$ у м'язах коропа зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,04$) зростання АТФ-азної активності у 2,68 раза щодо контролю (рис. 4.6). Очевидно, збільшення кількості іонів у воді зумовлює їх надмірне надходження у міоцити коропа. За таких умов вбудована у мембрану АТФ-аза активується, гідролізуючи молекули АТФ, що дозволяє організму риб нормалізувати осмотичні процеси. Проте, відповідна реакція потребує затрати великою кількості високоенергетичного фосфату, що зумовлює розвиток виснаження організму.

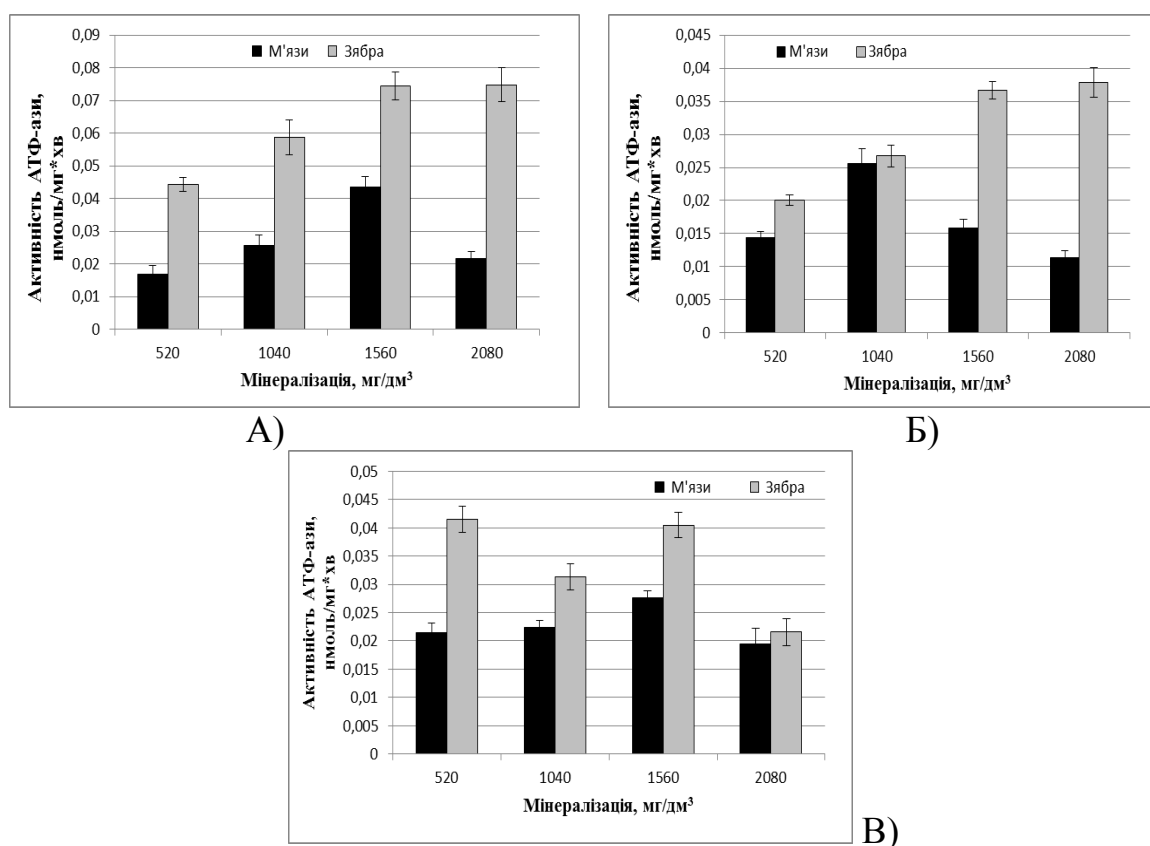


Рис. 4.6. АТФ-азна активність у тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

На активність АТФази великою мірою впливає стан біологічних мембран. Багато організмів регулюють плинність своїх мембран шляхом адаптації ферментативної системи до зміни йонного складу води, що вказує на важливість цього параметра для мембранних функцій. Фізичний стан мембрани

може регулювати численні реакції, які відбуваються в їх товщі та пов'язані з функціонуванням вбудованих у неї білків. Чисельні експериментальні роботи ілюструють залежність активності мембранних ферментів від стану самої мембрани. Наприклад, існує різке інгібування активності ферментів при різних впливах, що призводять до зниження плинності мембран [6].

За максимальної мінералізації води ($2,0 \text{ г/дм}^3$) активність ферменту істотно впала порівняно з $1,5 \text{ г/дм}^3$, проте залишилась вищою за контроль у 1,31 раза (рис. 4.6). Зазначені зміни свідчать до розвиток адаптації в м'язах коропа до дії підвищеної мінералізації води. Часто це проявляється в ущільненні біологічних мембран для зменшення їх проникливості. Не виключено також, що причиною зменшення активності ферменту є зниження інтенсивності гідролізу АТФ або ж недостатня кількість його утворення.

У зябрах коропа встановлено вірогідне підвищення АТФ-азної активності за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ у 1,68 раза щодо контролю (рис. 4.6). Це свідчить про активацію обмінних процесів у респіраторному апараті коропа. Також відповідну реакцію можна вважати захисним механізмом до дії підвищеної концентрації йонів солей у воді. Очевидно у зябрових пелюстках за таких умов активно відбувається гідроліз АТФ. Енергія, яка виділяється при цьому використовується ферментом на нормалізацію йонного обміну [74].

Щодо окуня, то в його м'язах за мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ зафіксовано зростання АТФ-азної активності в 1,78 раза відносно контролю (рис. 4.6). Це можна вважати первинною відповіддю на вдвічі більший вміст солей у воді порівняно з контролем. При подальшому підвищенні мінералізації води до $2,0 \text{ г/дм}^3$ активність ферменту вірогідно зменшувалась та нижче контролю у 1,27 раза. Очевидно, високий вміст йонів у воді зумовлює інгібуючий ефект на осморегуляційні процеси у м'язах окуня. Також варто підкреслити концентраційно-залежний характер зменшення активності ферменту. Фактично дану закономірність можна назвати антибатною, оскільки при збільшенні концентрації солей у воді підвищується інгібування активності ферменту.

У зябрах окуня, як і в коропа із підвищенням мінералізації води АТФ-азна активність вірогідно зростає. Це може бути свідченням посилення транспорту йонів через мембрани клітин внаслідок збільшення їх концентрації у воді. Відповідний регуляторний механізм потребує затрати великої кількості енергії, що веде за собою активацію енергетичного обміну. Із отриманих результатів варто відмітити, що короп та окунь протидіють збільшенню концентрації солей у воді активацією обмінних процесів у зябрах [215].

У плітки реакція на умови експерименту була іншою. У м'язах риб адаптація до дії чинника очевидно відбувалася ще при початкових концентраціях солей, оскільки всі досліджені рівні мінералізації суттєвих змін в активності ферменту не спричинила. Варто лише відмітити незначне підвищення АТФ-азної активності за мінералізації $1,5 \text{ г/дм}^3$ на 22,3% щодо контролю, що також свідчить що активацію натрій-калієвої помпи мембран міоцитів (рис. 4.6).

У зябрах плітки зафіксовано інгібування АТФ-азної активності із підвищенням мінералізації води. А саме, за мінералізації $2,0 \text{ г/дм}^3$ відмічено вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження активності ферменту в 1,95 раза щодо контролю (рис. 4.6). Це може свідчити про низьку інтенсивність енергетичного обміну у зябрах плітки за максимальної дослідженої мінералізації води. Наслідком чого може бути недостатнє утворення АТФ, енергія якої використовується на забезпечення осморегуляційних процесів у клітинах. Отжео суттєво знижується активність ключового ферменту йонного обміну в зябрах плітки, що призводить до ускладнення процесів транспортування йонів калію в клітину а натрію із неї [10]. У клітинах затримується вода, що призводить до набухання мітохондрій та самої клітини, та, як наслідок, до уповільнення процесів генерування енергії [13].

Нами зафіксовано підвищення активності СДГ у м'язах коропа по мірі підвищення мінералізації води. Так, відмічено зростання активності ферменту в 1,38 раза щодо контролю вже за мінералізації $1,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.7). Очевидно збільшення концентрації солей у воді вдвічі спричиняє активацію обмінних

процесів у м'язах коропа, а саме аеробну гілку енергетичного обміну. Це дозволяє забезпечити тканини достатньою кількістю енергії для реалізації процесів осморегуляції. Той факт, що за мінералізації води $1,5 \text{ г/дм}^3$ активність СДГ майже зрівнялась із контролем свідчить про більш виражений розвиток адаптації організму коропа до дії вищої мінералізації. Це також підтверджує високу пластичність цього виду до дії абіотичних чинників.

За максимальної мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ активність ферменту в м'язах коропа зросла порівняно з контролем у 1,77 раза. За таких умов у м'язах коропа значно активуються енергетичний обмін. Не виключено, що тривала дія несприятливого чинника може порушити рівновагу між генеруванням енергії та її використанням [11, 54].

Щодо зябер коропа, то зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) пригнічення активності СДГ за мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.7). Можна припустити, що подібне зниження аеробних шляхів генерування енергії у зябрах коропа може бути спричинене як і активним транспортом йонів калію в клітини зябер, так і недостатнім виведенням йонів натрію з них [26].

При підвищенні мінералізації води до $2,0 \text{ г/дм}^3$ активність ферменту вірогідно зростала у 1,29 раза щодо контролю (рис. 4.7). Очевидно за таких умов у зябрах коропа активується реакція окиснення сукцинату до фумарату та, в цілому, функціонування циклу трикарбонових кислот. Подібну реакцію можна вважати компенсаторним механізмом на дію підвищеної мінералізації води.

Щодо окуня, то його фізіологічна реакція на зміну йонного складу води була дещо іншою, ніж у коропа. Так, у м'язах зазначеного виду активність СДГ стрімко знижувалася по мірі підвищення мінералізації води (зворотна залежність) та за $2,0 \text{ г/дм}^3$ була нижчою за контрольну величину у 1,51 раза.

Оскільки функціонування СДГ залежить від постачання у клітини кисню, то зниження його активності може бути результатом гіпоксії у м'язах окуня. У його зябрах зафіксовано зниження активності ферменту в 1,96 раза щодо

контролю за максимальної мінералізації води. Отже, за цим критерієм окунь менш резистентний вид ніж короп до дії підвищеної мінералізації води.

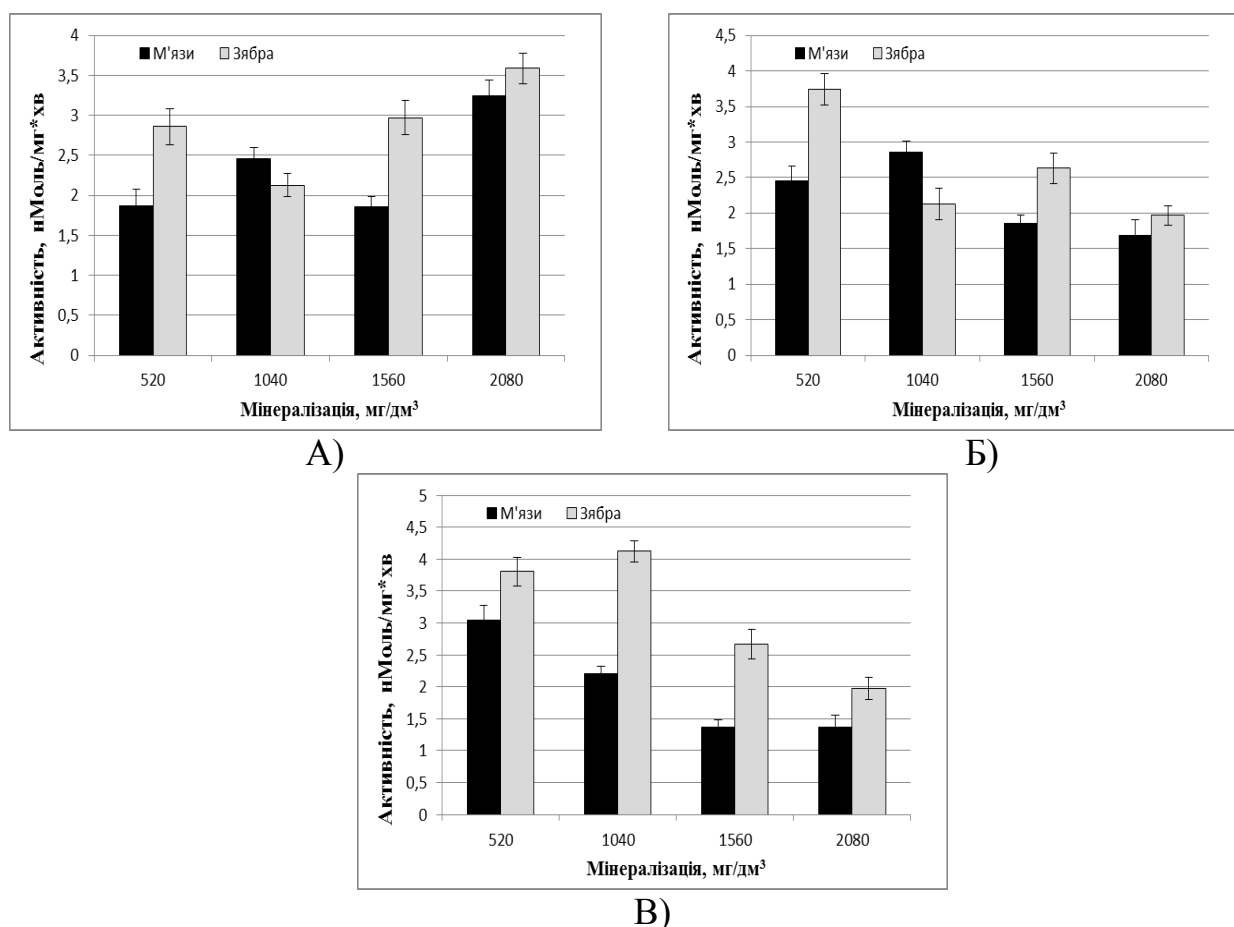


Рис. 4.7. Активність сукцинатдегідрогенази в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Плітка на дію підвищеної мінералізації води реагує вірогідним зменшенням активності СДГ у м'язах та зябрах у 2,22 та 2,01 раза відповідно щодо контролю за максимальної дослідженої мінералізації (рис. 4.7). Це свідчить про суттєве пригнічення інтенсивності генерування енергії. Також це можна вважати прямим підтвердженням зниженням йонообмінних процесів у тканинах плітки, оскільки їх перебіг відбувається із використанням великої кількості енергії. Осмотичний баланс у тканинах за таких умов порушується, що може бути наслідком надмірного ущільнення біологічних мембран. [18, 39].

За зміни мінералізації води ЛДГ забезпечує нормальне функціонування енергетичного обміну, що проявляється в підвищенні кількості глюкози та

лактату в печінці та м'язах [14, 82, 86]. Настання гіпоксичного шоку, спричиненого різними чинниками, зумовлює зміну активності м'язової та зябрової ЛДГ у риб у бік посиленої утилізації лактату.

Встановлено, що за мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ активність ЛДГ у м'язах коропа зростала незначно, що можна розглядати як реакцію на збільшення концентрації солей у воді вдвічі порівняно з контролем. Надалі активність ферменту зменшувалася, та за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ була меншою за контроль у 1,51 раза (рис. 4.8).

Очевидно функціонування гліколітичних процесів у м'язах коропа інгібувалось дією підвищеної мінералізації води. Оскільки активність СДГ та АТФ-ази у м'язах цього виду підвищується за умов експерименту, то очевидно, що енергетичний та йонний обмін у коропа функціонують на нормальному рівні.

Щодо зябер зазначеного виду, то активність ЛДГ суттєво знижувалась у напрямку підвищення мінералізації води, та за максимальної експозиції становила 1838 МОд/дм^3 , що менше за контроль у 1,95 раза (рис. 4.8). Активність СДГ при цьому у зябрах коропа підвищується, що свідчить про перехід метаболізму цього виду на аеробний шлях генерування енергії. Подібні зміни можуть бути спричинені потребою у врівноваженні осмотичних процесів у клітинах зябер коропа за рахунок екскреції хлоридними клітинами надлишкових йонів в умовах підвищеної концентрації солей у воді [35, 52]. При цьому витрачається велика кількість енергії у вигляді АТФ, основним джерелом якої у даному випадку, очевидно, є цикл трикарбонових кислот. Варто відмітити, що за цим критерієм короп проявляє високу резистентність до дії підвищеної мінералізації води.

У м'язах та зябрах окуня зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) підвищення активності ЛДГ за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ в 1,41 та 1,34 раза відповідно щодо контролю (рис. 4.8). При цьому активність СДГ у цих тканинах пропорційно знижується за підвищенням мінералізації.

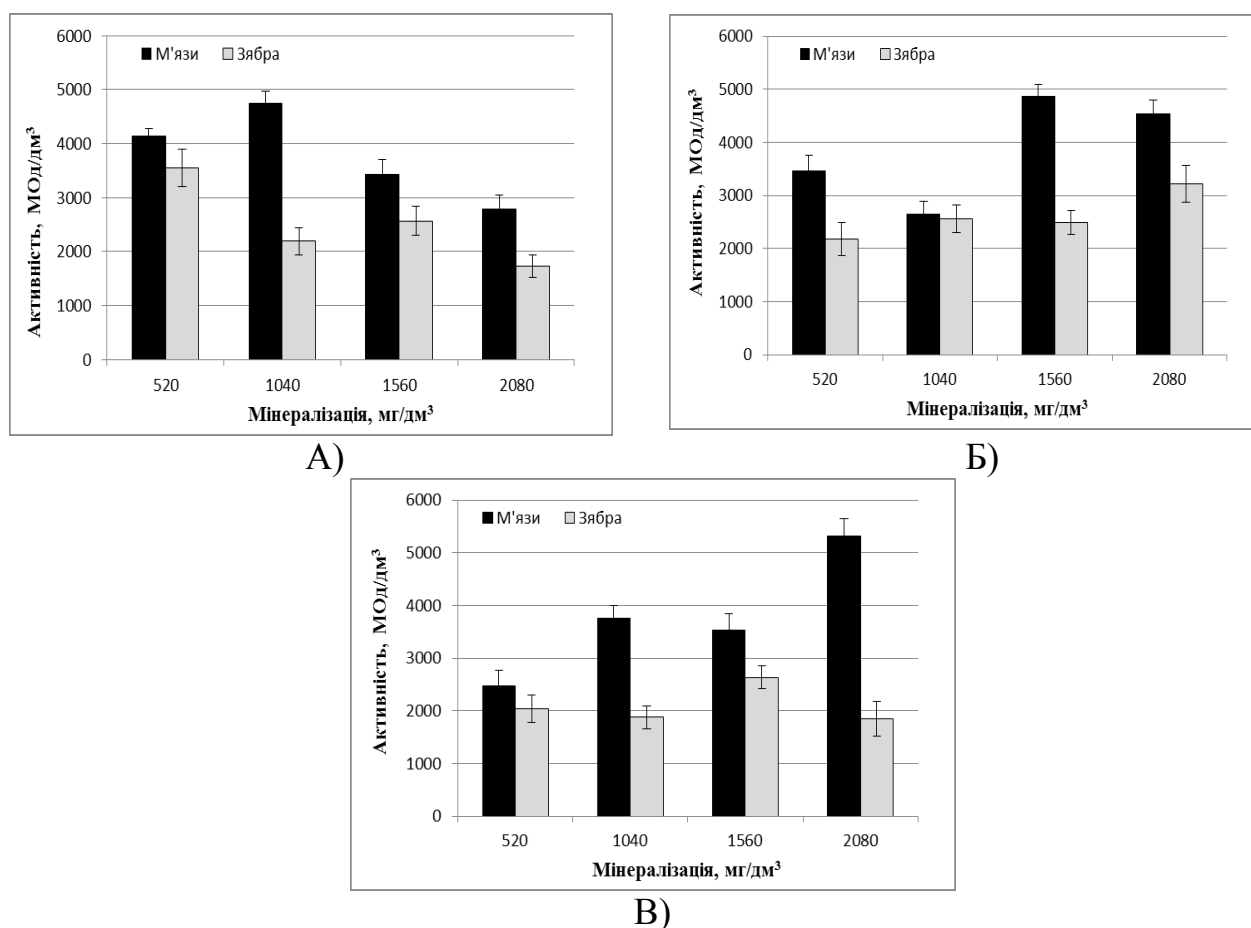


Рис. 4.8. Активність лактатдегідрогенази в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Очевидно це є наслідком активації гліколітичних процесів у м'язах та зябрах окуня. Також переважання гліколізу над циклом трикарбонових кислот забезпечує підтримання енергетичних запасів на мінімальному рівні до моменту, коли інгібуюча дія несприятливого чинника припиниться. За подібних умов інтенсивність йонообмінних процесів у тканинах окуня також сповільнюється, оскільки лімітуючим чинником тут виступає кількість енергії у вигляді АТФ.

Щодо плітки, то в її тканинах активність ЛДГ за умов експерименту змінювалася по різному. Так, у її м'язах зафіксовано зростання активності ЛДГ у 2,12 раза щодо контролю за максимальної ($2,0 \text{ г/дм}^3$) мінералізації води (рис. 4.8). Це є обернено пропорційним щодо активності СДГ та свідчить про активацію процесів анаеробного розчеплення глюкози у міоцитах. Очевидно, що інтенсивніше підвищення активності ЛДГ у м'язах плітки порівняно з

окунем може бути зумовлено особливостями біології цього виду, а також своєрідними механізмами регуляції водно-сольового обміну. Не виключено, що ізоформа ЛДГ, локалізована в м'язах плітки, активніше бере участь у енергозабезпеченні її міоцитів на час дії несприятливого чинника [83].

Щодо зябер плітки, то чіткої закономірної зміни активності ферменту із підвищенням мінералізації води нами зафіксовано не було. Проте, варто відмітити незначне підвищення активності ЛДГ на 28% щодо контролю за мінералізації води $1,5 \text{ г/дм}^3$. Надалі за максимальної експозиції активність ферменту практично зрівнялась із контрольною величиною (рис. 4.8). Виходячи із змін активності СДГ (вірогідне її зниження), варто припустити, що в цьому випадку функціонування циклу трикарбонових кислот у зябрах плітки суттєво пригнічується, а гліколіз як компенсаторна реакція ще не активується. Окрім цього, як зазначено вище, вміст глюкози у крові плітки дещо зростає по мірі підвищення мінералізації води. Відповідно, можна припустити, що джерелом енергії у зябрах плітки за дії зміни мінералізації води були не вуглеводи, а інші субстрати (ліпіди або білки). Однак, тривала дія підвищеної мінералізації води може спричинити надмірне виснаження організму окуня.

Досліджено також зміни активність цитохромоксидази у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води. За результатами чисельних досліджень ЦО, як ключовий фермент біоенергетичних процесів, є важливим індикатором стану аеробного окиснення у живих організмів [112, 113, 114]. Також цитохромоксидаза знаходиться в тісних еквімолярних взаєминах із сукцинатдегідрогеназою, оскільки ці ферменти розташовані відповідно в кінці на початку дихального ланцюга, та організовані в кристах мітохондрій комплексними ансамблями із правильними проміжками [7].

На підвищення мінералізації води короп реагував зростанням активності ЦО в м'язах у 1,93 раза щодо контролю за максимальної величини вмісту солей у воді (рис. 4.9). При цьому, в його виду зафіксовано інгібування активності ферменту при мінералізації води $1,5 \text{ г/дм}^3$ у 1,44 раза та підвищення величини цього показника в 1,42 раза щодо контролю при $2,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.9).

Ці зміни позитивно корелюють із величинами активності СДГ у тканинах коропа та підтверджують активацію процесів аеробного шляху генерування енергії. Варто відмітити, що активність ЦО в зябрах коропа істотно вища, порівняно з м'язами, що підтверджує її функціональну залежність від наявності кисню в тканини. Очевидно, що це є ще одним підтвердженням активації йонного обміну в тканинах коропа в умовах підвищеної мінералізації води, оскільки вищеописана АТФ-азна активність (яка також зростає в цьому випадку) великою мірою залежить від енергії АТФ, а як відомо найпродуктивнішим шляхом її генерування є цикл трикарбонових кислот [7, 82].

У тканинах окуня зміни активності ЦО носять зворотний характер. Так, підвищення мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ спричинило вірогідне ($P \leq 0,05$) інгібування активності ферменту. За 2,0 г/дм³ активність ЦО у м'язах та зябрах окуня знижується в 1,91 та 1,95 раза відповідно щодо контролю (рис. 4.9).

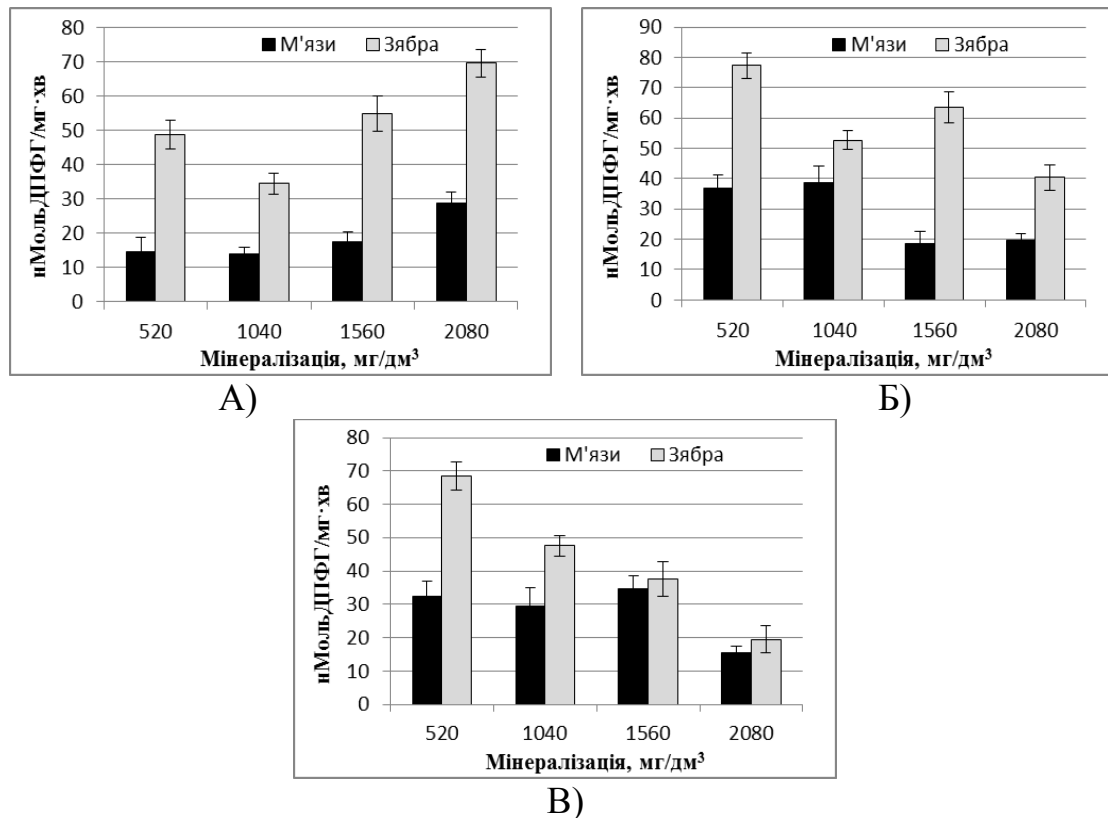


Рис. 4.9. Активність цитохромоксидази в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Пряма кореляція змін цього показника із активністю СДГ дає право стверджувати, що збільшення концентрації солей у воді пригнічує функціонування аеробного шляху генерування енергії.

Також, зазначена активність ЦО свідчить про інгібування дихального ланцюга мітохондрій, що може бути викликано обмеженням надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c [112, 116, 118].

Альтернативою цьому є переключення метаболізму у тканинах окуня на безкисневий шлях генерування енергії, підтвердженням чого є вищеописане підвищення активності ЛДГ. Проте за тривалої дії несприятливого чинника процеси водно-сольового обміну можуть ускладнюватися в міру недостатнього генерування енергії АТФ на їх забезпечення. Окрім цього, вищеописана АТФ-азна активність показує, що гідроліз АТФ у зябрах окуня відбувається інтенсивно (у м'язах навпаки). Висока швидкість використання АТФ на забезпечення транспорту йонів через мембрани та мала швидкість його генерування призведе до неспроможності клітин виконувати зазначені функції, результатом чого може бути критичне порушення йонного гомеостазу клітин та тканин.

Плітка за цим показником реагує на підвищення мінералізації води подібно до окуня. Зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження активності ЦО у м'язах та зябрах плітки за максимальної мінералізації ($2,0 \text{ г/дм}^3$) в 1,93 та 3,45 рази відповідно щодо контролю (рис. 4.9). Із отриманих даних видно, що пригнічення функціонування дихального ланцюга у зябрах окуня набагато інтенсивніше, ніж у м'язах. Очевидно респіраторний апарат плітки функціонує в складних умовах, оскільки і цикл Кребса і гліколіз в цьому випадку сповільнюється, що підтверджує відповідна активність СДГ та ЛДГ. Ці зміни варто розглядати як вагомі зміни енергетичного обміну та йонообмінних процесів в тканинах плітки в умовах підвищеної мінералізації води. Очевидно, що пристосування цього виду до таких умов відбувається складніше, ніж

коропа та окуня, а за тривалої дії несприятливого чинника може привести до негативних наслідків.

4.3. Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води.

Мітохондрії посідають центральне місце у генеруванні енергії в клітинах, яка використовується організмом для його повноцінного функціонування. Особливо це стосується м'язів, зябер та печінки у риб. Ці тканини характеризуються високим рівнем енергетичного обміну, а їх специфічна функція пов'язана з великою витратою енергії [12, 23]. Низка різних чинників та токсикантів, які здатні впливати на функціонування клітин, пригнічують тканинне дихання, окиснювальне фосфорилування і, як наслідок, синтез макроергічних фосфатів. Підвищена мінералізація води не є винятком.

Рівень АТФ у клітині підтримується за рахунок чисельних механізмів. Серед них окиснювальне фосфорилування, внаслідок якого генерується основна кількість АТФ (80–90 %), субстратне фосфорилування при окисненні гліцеральдегід-3-монофосфату й α -кетоглутарату та ін. [103, 110]. Рівень АТФ у різних органах і тканинах неоднаковий.

В результаті досліджень було встановлено, що вміст аденілових нуклеотидів та їх співвідношення у різних тканинах риб значною мірою залежить від мінерального складу води, зокрема від збільшення рівня мінералізації. Так, при підвищенні мінералізації води до $2,0 \text{ г/дм}^3$ у м'язах коропа відмічено підвищення кількості АТФ та АМФ у 1,71 та 1,37 рази відповідно щодо контролю. Щодо АДФ, то мінералізація води $1,0 \text{ г/дм}^3$ стимулювала зниження кількості цього макроерга в 1,41 рази щодо контролю, проте по мірі зростання мінералізації води спостерігалась тенденція до підвищення його вмісту (рис. 4.10).

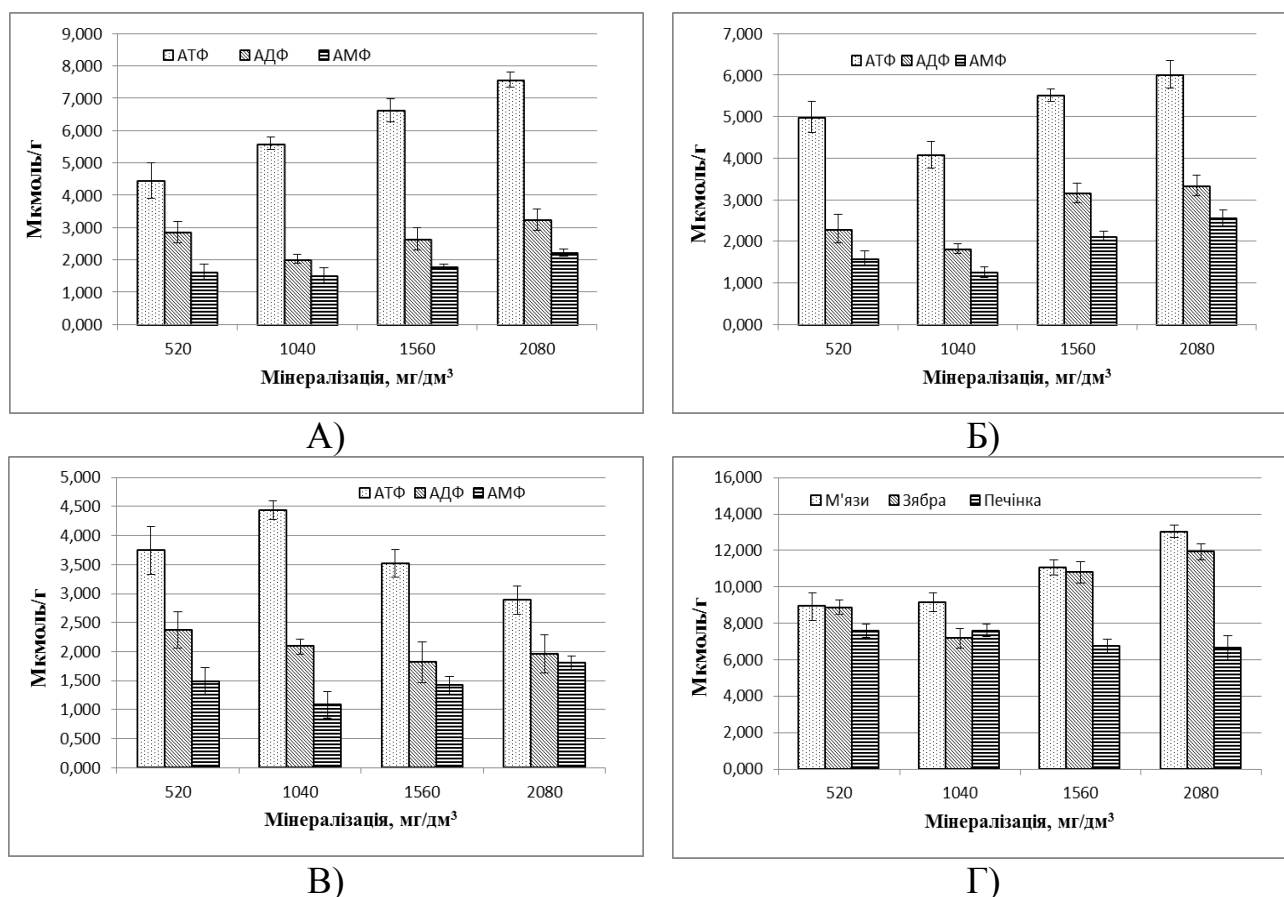


Рис. 4.10. Вміст аденілових нуклеотидів та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) в м'язах (А), зябрах (Б), печінці (В) коропа за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Очевидно, в міоцитах коропа активуються процеси синтезу АТФ для забезпечення нормального функціонування їх йонного обміну. Також це є свідченням активації процесів окиснювального фосфорилування та дихального ланцюга мітохондрій, що підтверджується також підвищеною активністю СДГ та ЦО в м'язах коропа за згаданих умов [54].

Щодо співвідношенні основних компонентів аденілатної системи у м'язах коропа, то зафіксовано підвищення частки АТФ в 1,20 раза та зниження частки АДФ в 1,33 раза щодо контролю за мінералізації води 2,0 г/дм³ (рис. 4.11). Співвідношення всіх досліджених макроергів за максимальної мінералізації сягало АТФ:АДФ:АМФ – 58%:25%:17% проти 49%:33%:18% у контролі. Очевидно, що АТФ в цьому випадку утворювалось за рахунок фосфорилування АДФ. Підвищення інтенсивності цього процесу свідчить про

розвиток компенсаторних механізмів у м'язах коропа на дію підвищеної мінералізації води.

Варто також відмітити сумарний вміст АТФ+АДФ+АМФ у м'язах коропа за умов експерименту, а саме вірогідне ($P \leq 0,05$) його підвищення по мірі зростання мінералізації води (рис. 4.10), що також є свідченням активації біоенергетичних процесів у м'язах цього виду для достатнього енергетичного забезпечення адаптивних процесів.

Зябра коропа на дію підвищеної мінералізації води реагували зниженням вмісту АТФ, АДФ та АМФ в 1,24, 1,27 та 1,33 раза відповідно щодо контролю за концентрації солей $1,0 \text{ г/дм}^3$, та наступним підвищенням вмісту макроергів у 1,22, 1,43 та 1,66 раза відповідно при мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.10). При цьому зміни у співвідношенні аденілатів за максимальної мінералізації були наступними: АТФ:АДФ:АМФ – 50%:28%:22% проти 57%:25%:18% у контролі (рис. 4.11). Очевидно, що підвищення мінералізації води посилювало синтез всіх трьох макроергічних сполук. Проте, в силу взаємокомпенсації цих речовин частка АТФ у зябрах коропа знизилась, а АДФ та АМФ незначно зросла. Це свідчить про активне використання АТФ на процеси забезпечення процесів йонного обміну, а також про деяке пригнічення його ресинтезу. Частково це компенсується збільшенням частки АДФ. За змінами активності досліджених ферментів енергетичного обміну у зябрах коропа можна стверджувати, що основним шляхом генерування АТФ за умов експерименту є цикл трикарбонових кислот та дихальний ланцюг мітохондрій. Внаслідок цього енергозабезпечення клітин зябер коропа функціонує нормально навіть в умовах чотирикратного підвищення концентрацій солей у воді.

Сумарний вміст аденілатів у зябрах коропа також вірогідно підвищувався в 1,45 раза щодо контролю за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.10), що є прямим підтвердженням посиленого синтезу макроергічних сполук для врівноваження водно-сольового балансу в зябрах риб.

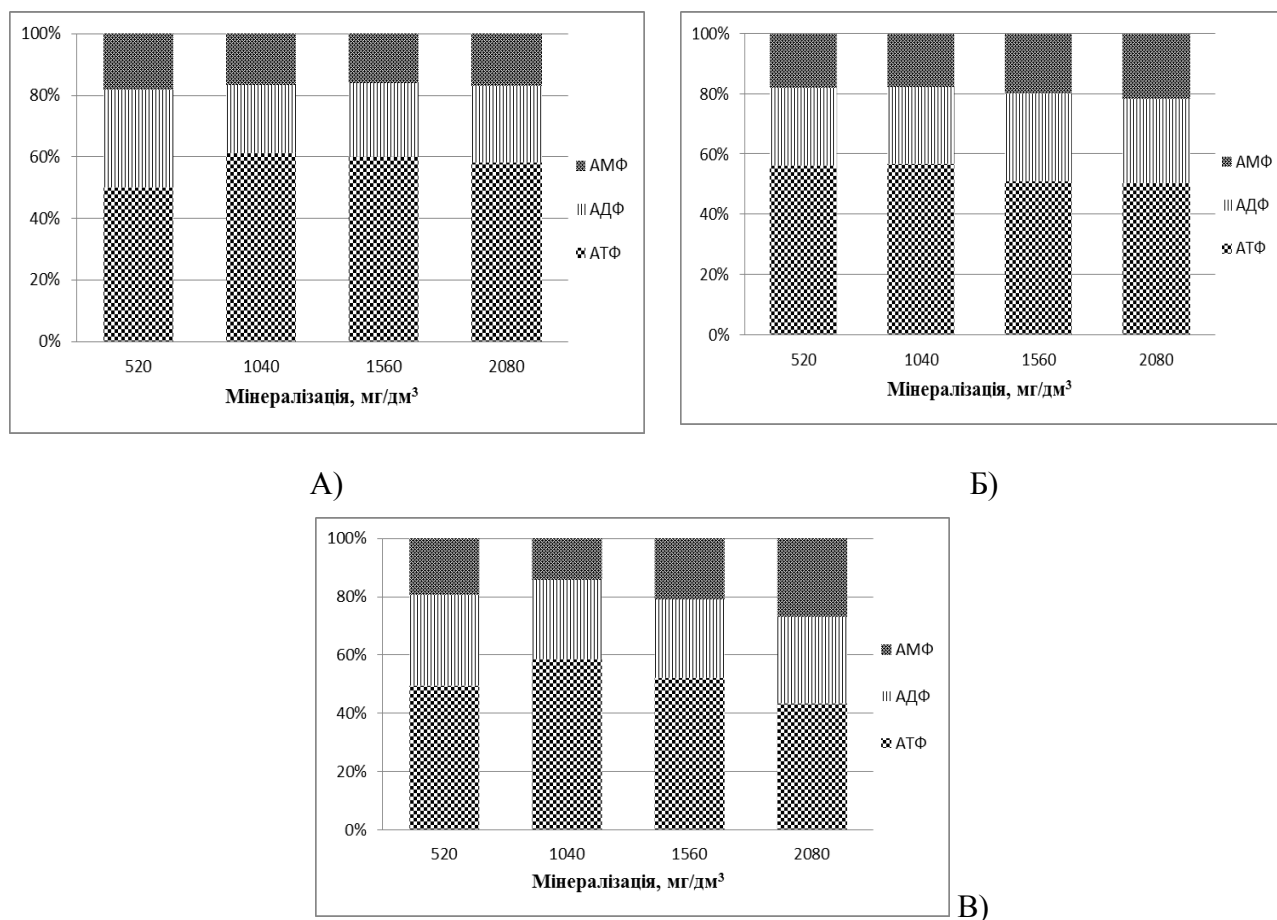


Рис. 4.11. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) коропа за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

В печінці коропа зафіксовано інші закономірності щодо вмісту аденілатів. Мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ підвищувала вміст АТФ у ній в 1,18 раза, та знижувала концентрації АДФ та АМФ в 1,20 та 1,48 раза відповідно щодо контролю (рис. 4.10). Це відобразилось також на співвідношенні аденілатів у цій тканині, а саме збільшення частки АТФ в 1,19 раза та зменшення частки АДФ та АМФ у 1,14 та 1,35 раза відповідно відносно контролю (рис. 4.11). Відповідні зміни можна розглядати як адаптивну реакцію коропа на збільшення мінералізації води вдвічі порівняно з контролем. Провідна роль печінки в подібних реакціях полягає в тому, що в ній протікає переважна більшість метаболічних реакцій. Генерована в гепатоцитах енергія використовується на синтез чисельних субстратів, які можуть транспортуватися в інші органи та слугувати там джерелом енергії [10, 74].

По мірі підвищення мінералізації води від 1,0 до 2,0 г/дм³ вміст АТФ у печінці коропа вірогідно ($P \leq 0,05$) знижувався та за максимальної мінералізації води був меншим за контроль у 1,32 раза (рис. 4.10). Проте зафіксовано підвищення концентрації АМФ в 1,28 раза щодо контролю за максимальній мінералізації. Щодо співвідношення аденілатів, то за максимальної мінералізації води воно становило АТФ:АДФ:АМФ – 43%:29%:28% проти 49%:31%:20% у контролі (рис. 4.11). Із отриманих даних видно, що чотирикратне підвищення мінералізації води суттєво змінювало співвідношення аденілових нуклеотидів у печінці коропа, а саме викликало зменшення частки АТФ та підвищення АМФ. Це свідчить про активний гідроліз АТФ та пригнічення його ресинтезу. Очевидно, в цьому випадку має місце зниження інтенсивності дихання мітохондрій в гепатоцитах коропа [5, 11].

Відомо, що підтримання гомеостатичного рівня АТФ у тканинах здійснюється шляхом алостеричного регулювання швидкості окиснювального фосфорилування в мітохондріях. Оскільки в нашому випадку швидкість витрати АТФ перевищує максимальну швидкість її ресинтезу, що відбувається на внутрішній мітохондріальній мембрані, то активується гліколітичний шлях генерування енергії. Проте гліколітичне фосфорилування за дії несприятливого чинника не може повністю компенсувати недостатність окиснювального фосфорилування в силу його низької ефективності [7, 12, 69, 125]. Тому тривала дія такого чинника може спричинити надмірне виснаження організму.

Щодо окуня, то в його м'язах із підвищенням мінералізації води до 2,0 г/дм³ виявлено зниження вмісту АТФ у 1,68 раза (рис. 4.12) та суми аденілатів 1,51 раза щодо контролю. Подібні зміни спостерігались і щодо інших компонентів аденілатної системи, а саме супроводжувалися зниженням вмісту АДФ за мінералізації води 2,0 г/дм³ в 1,62 раза щодо контролю та тенденцією до підвищення рівня АМФ у м'язах окуня по мірі підвищення мінералізації води. Цей перерозподіл може свідчити про інтенсивне використання енергії в м'язах окуня та суттєві зміни в метаболізмі аденілатів [40, 131]. Також,

зазначені зміни можуть вказувати на пригнічення ресинтезу АТФ у мітохондріях міоцитів окуня, та недостатнє транспортування йонів кальцію у міоцити [39, 65].

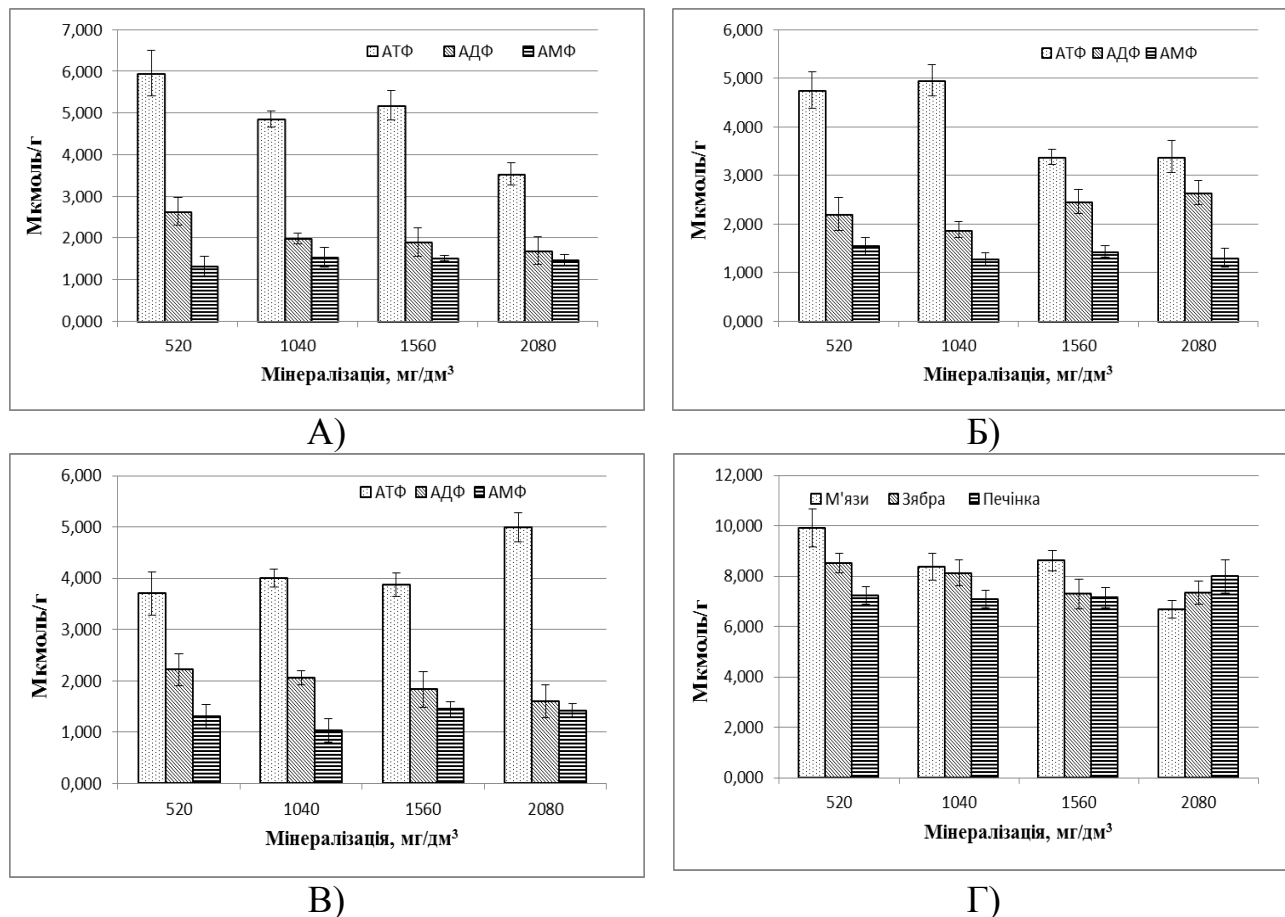


Рис. 4.12. Вміст аденілових нуклеотидів в м'язах (А), зябрах (Б), печінці (В) та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) у тканинах окуня за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Величини активності СДГ та ЦО свідчать про активне функціонування циклу трикарбонових кислот у м'язах окуня. Проте, зниження вмісту АТФ вказує на інтенсивне використання енергії для забезпечення процесів водно-сольового балансу.

Щодо співвідношення аденілатів у м'язах окуня, то зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження частки АТФ в 1,22 раза щодо контролю за мінералізації води 2,0 г/дм³, та суттєве підвищення частки АМФ у 2,11 раза при співвідношенні

АТФ:АДФ:АМФ – 50%:28%:22%, проти АТФ:АДФ:АМФ – 61%:29%:10% у контролі (рис. 4.13).

Ці зміни вказують на суттєві зміни метаболізму аденілатів у м'язах окуня. Це може негативно відображатися як і на біоенергетичному стані міоцитів риби, так і на їх руховій активності в цілому. Також підвищення частки аденозинмонофосфату в 2,1 раза щодо контролю вказує на переважання енергозатратних процесів над енергогенеруючими. Не виключено, що відповідні зміни спричинені інгібуванням анаболічних процесів у метаболізмі аденілатів та уповільненим використанням продуктів окиснювального фосфорилування.

Зябра окуня на підвищення мінералізації води реагували поступовим вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням концентрації АТФ, яка за мінералізації $2,0 \text{ г/дм}^3$ була меншою за контроль у 1,75 раза. Вміст АДФ практично не змінювався із підвищенням мінералізації води, а концентрації АМФ зростала та при $2,0 \text{ г/дм}^3$ перевищувала контроль у 1,26 раза. При цьому сумарний вміст аденілових нуклеотидів вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався по мірі підвищення мінералізації води (рис. 4.12).

Зниження активності СДГ та ЦО у зябрах окуня вказують на пригнічення активності циклу трикарбонових кислот та дихального ланцюга електронів, а активність ЛДГ при цьому вірогідно підвищується. Це що дає змогу припустити, що основним шляхом генерування АТФ у зябрах окуня при підвищення мінералізації води є гліколіз. Проте, як зазначалось вище, гліколітичне фосфорилування за дії несприятливого чинника не настільки ефективне, як окиснювальне. Тому відповідні зміни можна вважати пристосувальним механізмом для забезпечення нормальної життєдіяльності на час дії негативного чинника. АТФ-азна активність у зябрах коропа за цих умов вірогідно зростає, що може свідчити про інтенсивний гідроліз АТФ цим ферментом для забезпечення процесів осмотичної регуляції. Це яскравий приклад того, що в умовах підвищеної мінералізації швидкість використання АТФ набагато вища за її ресинтез.

Щодо співвідношення макроергів у зябрах, то зафіксовано зниження частки АТФ та підвищення частки АДФ, які за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ складали АТФ:АДФ:АМФ – 46%:36:18% проти 55%:26%:19% у контролі (рис. 4.13). Очевидно, частка АДФ підвищується за рахунок дефосфорилування АТФ. Аналіз отриманих результати вкотре підтверджує інтенсифікацію енергозалежних процесів у зябрах окуня та обмеження швидкості окиснювального фосфорилування в мітохондріях [35, 47].

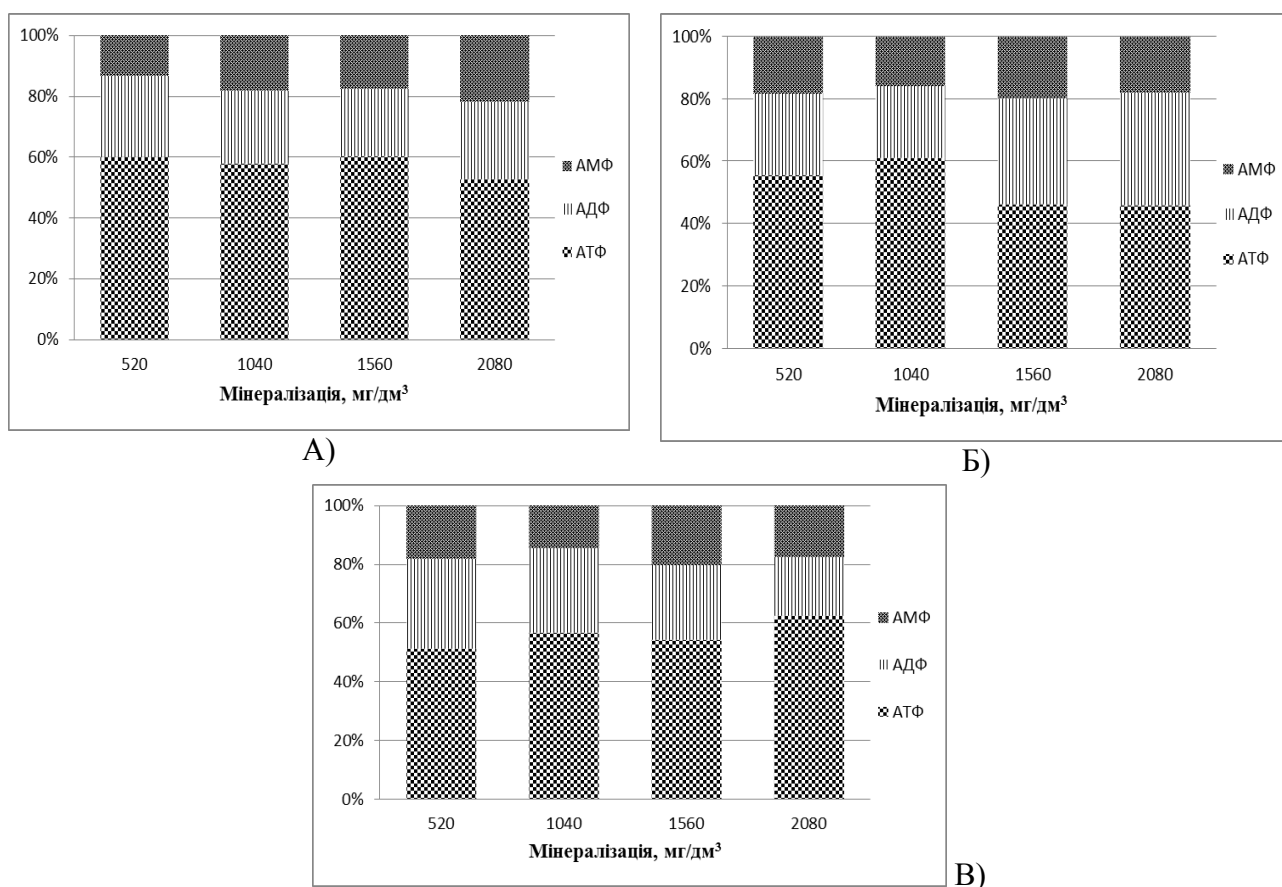


Рис. 4.13. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) окуня за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Підвищення мінералізації води у цьому випадку може спричинити обмеження дихання мітохондрій і окислювального фосфорилування, що часто відбувається за рахунок стимуляції перекисного окиснення ліпідів в клітині [5, 11]. Зазначені зміни можна розглядати як прояви адаптивних реакцій зябер

окуня до дії підвищеної мінералізації води, оскільки отримані зміни носять концентраційно-залежний характер.

У печінці окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення концентрації АТФ в 1,32 раза від контролю за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.12). Вміст АДФ по мірі підвищення мінералізації води знижувався, та за максимальної її величини був меншим від контролю в 1,37 раза (рис. 4.12). Щодо низькоенергетичного фосфату, то мінералізація води $1,0 \text{ г/дм}^3$ стимулювала початкове зниження концентрації АМФ в 1,30 раза щодо контролю. Надалі із підвищенням мінералізації води вміст АМФ зрівнявся із контролем за максимальної концентрації солей у воді. Сумарний вміст аденілатів у печінці окуня практично не змінювався з підвищенням мінералізації води (рис. 4.12), що свідчить про їх взаємокомпенсацію. Проте, зафіксовано суттєві зміни у співвідношенні аденілових нуклеотидів. Так, за максимальної мінералізації співвідношення АТФ:АДФ:АМФ становило 62%:20%:18% проти 51%:30%:19% у контролі (рис. 4.13).

Аналізуючи отримані данні варто відмітити підвищення частки АТФ та зниження частки АДФ. Очевидно, за підвищення мінералізації води у печінці окуня активується фосфорилування низькоенергетичних фосфатів, зокрема АДФ, внаслідок чого підвищується кількість АТФ. Не виключено також, що причиною цього може бути інгібування гідролізу АТФ. У будь-якому випадку, зазначене відсоткове співвідношення аденілатів є нетиповим, оскільки різниця між АДФ та АМФ дуже мала. Це може бути своєрідною реакцією на підвищення вмісту солей у воді. Проте, цей баланс у системі АТФ:АДФ:АМФ свідчить про суттєві зміни біоенергетичного стану печінки окуня.

Показники біоенергетичного стану тканин плітки за умов експерименту дещо подібні до окуня, проте в окремих випадках нами зафіксовано чіткі відмінності. По мірі підвищення мінералізації води від $0,5$ до $2,0 \text{ г/дм}^3$ зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту АТФ у м'язах плітки щодо контролю. Так, при $2,0 \text{ г/дм}^3$ різниця між величиною АТФ щодо контролю була у 1,67 раза (рис. 4.14). Вміст АДФ в м'язах риб також знижувалась та за

максимальної мінералізації води становила різницю із контролем у 1,46 раз. Очевидно, що в міоцитах плітки використовується велика кількість енергії для забезпечення нормального водно-сольового балансу [121]. Сумарний вміст аденілатів також вірогідно знижується з підвищенням мінералізації води.

Вірогідне зниження концентрації АТФ та АДФ у м'язах плітки може свідчити про інгібування фосфорилування у міоцитах. Не виключено, що зменшення кількості високоенергетичного фосфату в них спричинено активацією міокіназної реакції, при якій ресинтез АТФ активується внаслідок дефосфорилування певної кількості цього макроерга. Оскільки активність ЛДГ у м'язах окуня за умов експерименту зростає, що очевидно що ресинтез АТФ у цьому випадку відбувається за рахунок гліколізу [12].

Вміст АМФ у м'язах плітки вірогідно зростав, та за максимальної мінералізації води становив різницю із контролем 1,61 раз. Відповідні зміни вмісту аденілових нуклеотидів спричинили вагому реорганізацію їх співвідношення. Так, за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ співвідношення АТФ:АДФ:АМФ у м'язах риб становило 50%:28%:22% проти 61%:28%:11% у контролі (рис. 4.15). Аналізуючи отримані данні, варто відмітити зниження частки АТФ та практично двократне підвищення частки АМФ у міоцитах. Зазвичай підвищення концентрації АМФ є пусковим механізмом для ресинтезу АТФ. Однак у цьому випадку вміст та частка АТФ зменшується, що свідчить про вагомі зміни метаболізму аденілатів в організмі плітки із підвищенням мінералізації води. Очевидно подібний низькоенергетичний стан м'язів можна розглядати як заощаджувальний механізм на період дії несприятливого чинника [10].

Зябра плітки на підвищення мінералізації води реагували поступовим вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням концентрації АТФ в 1,76 раз щодо контролю (рис. 4.14). Вміст АДФ за умов експерименту практично залишався сталим, а концентрація АМФ поступово підвищувалася, та за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ становила різницю із контролем у 1,25 раз. Сумарний вміст аденілатів при цьому також вірогідно знижувався в 1,33 раз щодо контролю.

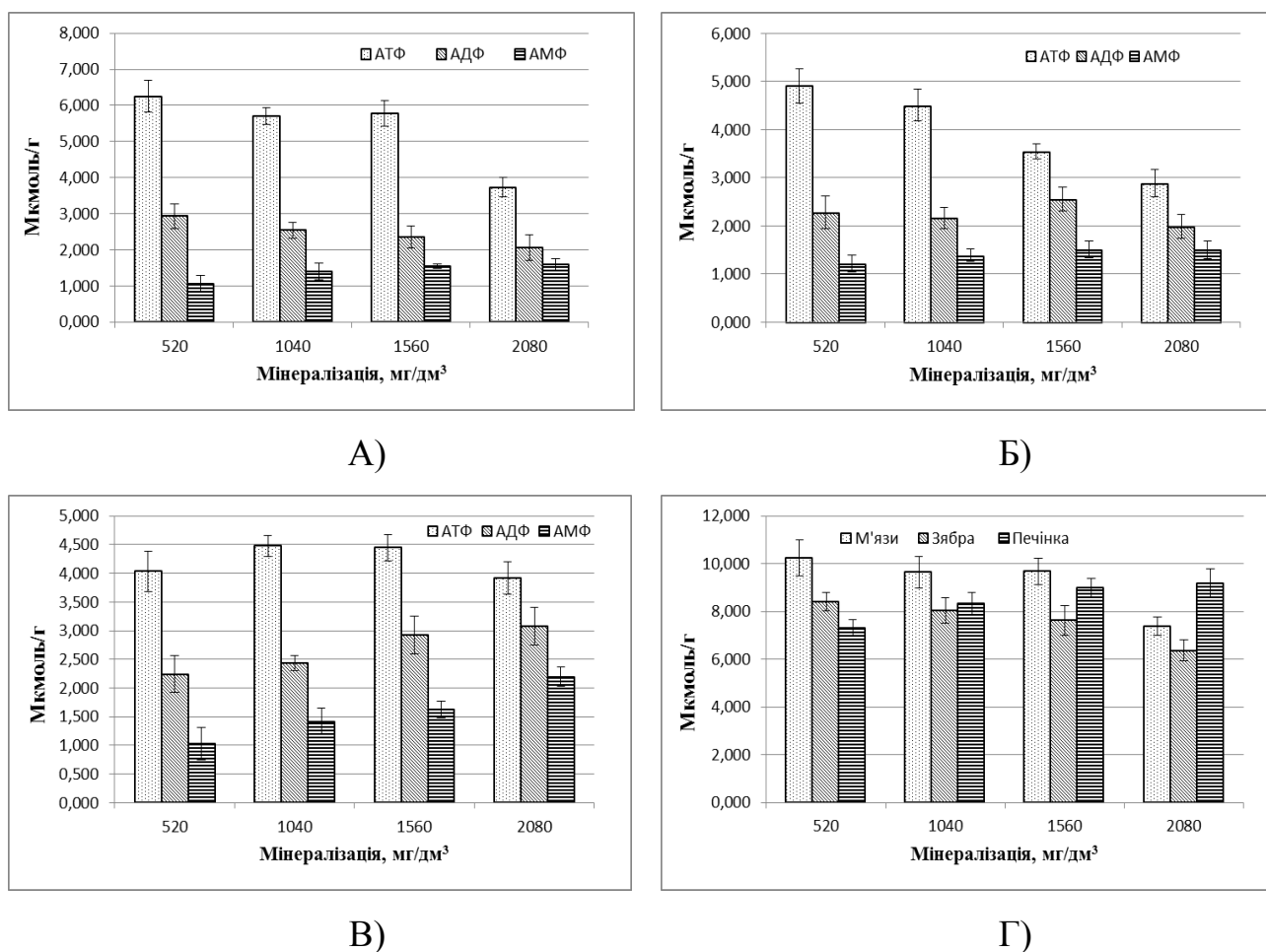


Рис. 4.14. Вміст аденілових нуклеотидів та сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) в м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) плітки за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Як відомо, співвідношення АТФ і АДФ визначають функціонування ланцюга переносу електронів залежно від енергетичних потреб клітин. У зябрах плітки зафіксовано стрімке зниження різниці співвідношення АТФ:АДФ, причому це спричинено більшою мірою зниженням концентрації АТФ. Очевидно, що за підвищення мінералізації води респіраторний апарат плітки активує анаеробний шлях метаболізму, про що свідчить незначна кількість генерування АТФ.

Активність СДГ та ЦО у зябрах плітки вірогідно знижуються, що підтверджує пригнічення анаеробних шляхів генерування енергії та активацію гліколітичних процесів.

Аналіз отриманих результатів показав концентраційнозалежні зміни вмісту аденілатів у клітинах зябер зазначеної аклімованої групи риб. Так, у зябрах плітки зафіксовано зниження частки АТФ в аденілатному пулі по мірі зростання мінералізації води, та збільшення частки АДФ та АМФ, що за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ були такі співвідношення АТФ:АДФ:АМФ – 45%:32%:23%, проти 58,4%:27,1%:14,5% у контролі (рис. 4.15).

Отримані результати можуть свідчити про активацію гідролізу АТФ, в наслідок чого підвищується концентрація інших компонентів аденілатного пулу. Активність ферментів енергетичного обміну дає змогу стверджувати, що в зябрах плітки за дії підвищеної мінералізації води ресинтез АТФ більшою мірою відбувався за рахунок гліколізу.

Також зростання частки АДФ та АМФ вказує на пригнічення енергозалежних процесів та дихального ланцюга мітохондрій у зябрах плітки. Проте, не виключено, що подібний перерозподіл може свідчити про активацію фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів.

Відомо, що зменшення вмісту аденілових нуклеотидів всього на 15–20 % призводить до зниження всіх енергозалежних процесів в клітині на 75–80% [5]. Часто у риб це зумовлює сповільнення синтетичних процесів у зябрах та печінці. При цьому, якщо зниження вмісту АТФ, ймовірно, пов'язано з сповільненням її ресинтезу внаслідок реорганізації структурно-функціональної організації компонентів дихального ланцюга, то збільшення пулу АМФ може бути зумовлене підвищенням інтенсивності її синтезу *de novo* [103].

Експериментально встановлено, що зростання вмісту АМФ є чинником, який може призводити до стимуляції процесів перекисного окиснення ліпідів у клітині. Взаємозв'язок процесів ліпідної пероксидації з зміною в тканинах метаболізму енергетичних сполук реалізується через дефіцит енергії, що виникає за створених умов [7].

Оскільки АТФ є універсальним джерелом енергії, то зниження концентрації АТФ у зябрах плітки за підвищення мінералізації води сприяє сповільненню всіх біосинтетичних процесів та превалюванню катаболічних

реакцій в клітині. Зміна балансу аденілових нуклеотидів може спричинити розлад йонного обміну в клітинах зябер. Зокрема, це може негативно вплинути на транспорт калію, оскільки АТФ та АДФ у мікромольних концентраціях пригнічують його транспорт АТФ-азами [216]. Також встановлено, що за цих умов може змінюватись перенесення кальцію клітинами, оскільки АДФ є високоспецифічним стимулятором його транспорту, який здатний змінювати конформаційний стан гідрофільної та гідрофобної частин Ca^{+} -АТФ-ази [217, 218].

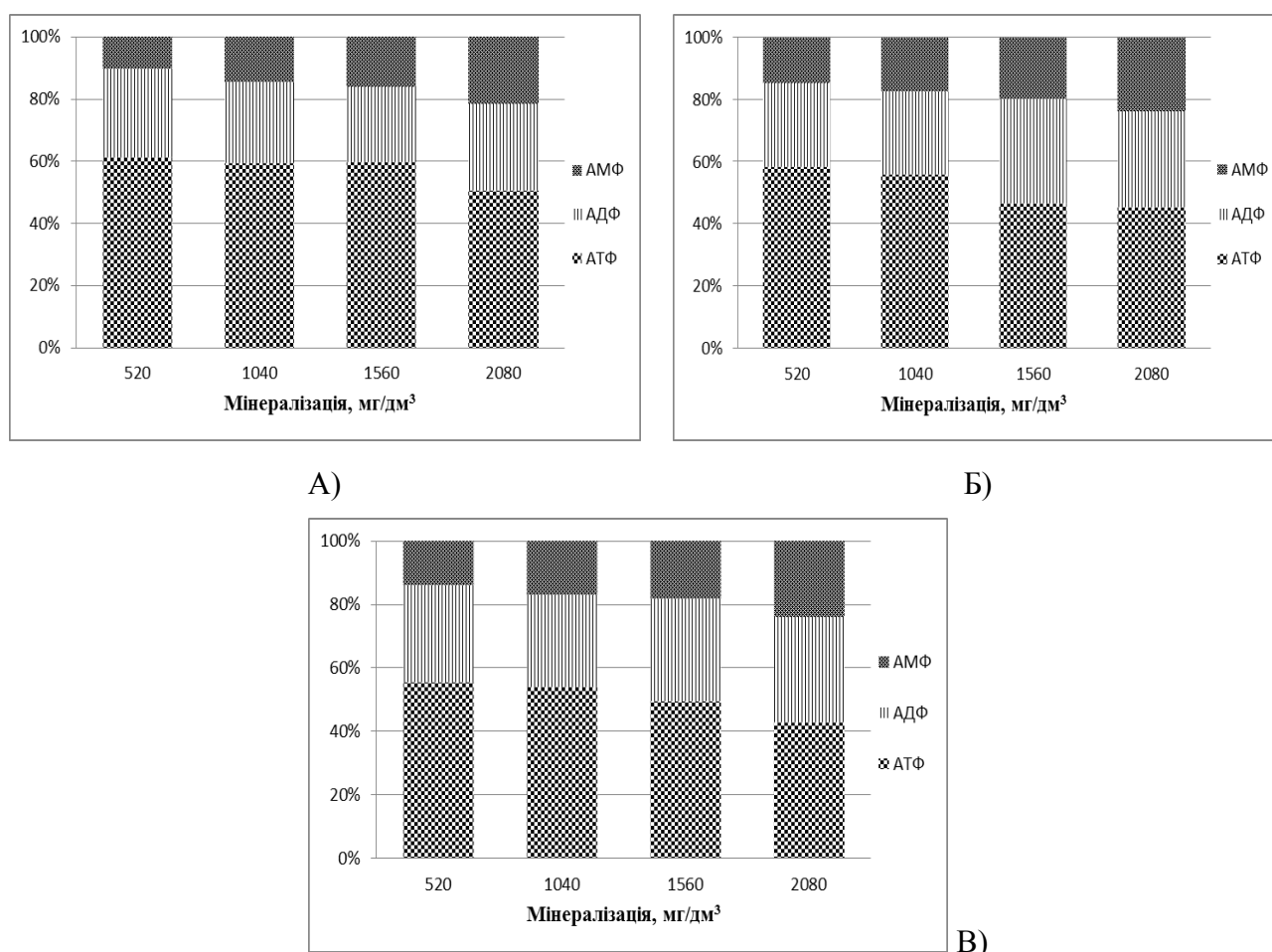


Рис. 4.15. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) плітки за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Вищеописані зміни можуть також впливати і на міжбілкові взаємодії, що модифікують властивості калієвих та натрієвих каналів. Оскільки лише в присутності АТФ Na^{+} , K^{+} -АТФ-аза знаходиться у зміненому конформаційному

стані для виконання своєї специфічної функції, то після виснаження цього субстрату молекула ферменту може змінювати свою структуру. Згаданий процес відбувається повільно, тому ще деякий час канали функціонують [82, 90, 102].

Біоенергетичний стан печінки плітки за умов експерименту дещо відмінний від інших досліджених органів. По мірі підвищення мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ зафіксовано концентраційнозалежну параболічну динаміку вмісту АТФ у гепатоцитах. При цьому концентрація АДФ та АМФ вірогідно ($p \leq 0,05$) зростали та при максимальній концентрації солей у воді становили різницю із контролем у 1,36 та 2,21 раза відповідно (рис. 4.14). Сумарний вміст АТФ+АДФ+АМФ при цьому дещо зростав із підвищенням мінералізації води.

Склад компонентів аденілатного пулу печінки плітки характеризується нерівномірним розподілом макроергічних сполук при всіх досліджених рівнях мінералізації води. Співвідношення АТФ:АДФ:АМФ у гепатоцитах плітки за максимальної мінералізації становило 42%:34%:24% проти 55%:31%:14% у контролі (рис. 4.15). Очевидно, зниження частки АТФ та суттєве підвищення частки АМФ свідчить про інтенсивне дефосфорилування високоенергетичного фосфату. Розвиток низькоенергетичного стану гепатоцитів плітки вірогідно компенсується за рахунок АДФ, оскільки її частка майже не змінюється із підвищенням мінералізації води.

Не виключено, що це є механізмом пристосування до дії несприятливого чинника, що проявляється в збалансуванні процесів гідролізу АТФ та його ресинтезу [131]. Це також підтверджує сумарний вміст аденілатів (АТФ+АДФ+АМФ), який зі зростанням мінералізації води пропорційно підвищувався.

4.4. Зміна величини основних біоенергетичних індексів у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води.

Підвищення аденілатного енергетичного заряду викликає активацію ферментів, які утилізують АТФ з утворенням АДФ або АМФ та інактивацію реакцій протилежного характеру. Зменшення ж енергетичного заряду, навпаки, супроводжується активацією синтезу АТФ та інактивацією розпаду. Величина ЕЗ підтримується на постійному рівні завдяки збереженню рівноваги між АТФ, АДФ й АМФ [69].

Нами встановлено, що підвищення мінералізації води від 0,5 до 1,0 г/дм³ стимулює вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення ЕЗ у м'язах коропа (рис. 4.16). Надалі із підвищенням мінералізації до 2,0 г/дм³ величина цього критерію залишалась на тому ж рівні. Очевидно це відбувається шляхом дефосфорилування високоенергетичного фосфату, оскільки концентрації АДФ та АМФ з підвищенням мінералізації води також зростає (рис. 4.10). Таким чином, біоенергетичний стан м'язів коропа компенсується за рахунок відповідного співвідношення компонентів аденілатної системи.

У зябрах коропа відмічено тенденцію до незначного поступового зниження величини енергетичного заряду. Однак ці зміни не суттєві, що також забезпечується взаємокомпенсацією аденілатів. Оскільки поряд із незначним накопиченням АТФ у зябрах коропа, вміст АДФ та АМФ також зростали по мірі підвищення мінералізації води, то величина ЕЗ свідчить про нормальне функціонування біоенергетичних процесів у цій тканині. Очевидно, судячи із активності ферментів енергетичного обміну, зазначена компенсація відбувається шляхом ресинтезу АТФ за рахунок аеробних шляхів генерування енергії.

У печінці коропа ситуація неоднозначна. Підвищення мінералізації води до 1,0 г/дм³ стимулювало зростання ЕЗ на 13%, а 2,0 г/дм³ вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження величини заряду на 31% щодо контролю (рис. 4.16). Це вказує на значні зміни у співвідношенні компонентів аденілатного пулу, що виражається у зниженні частки АТФ та підвищенні АДФ та АМФ. Зниження ЕЗ очевидно активує ресинтез АТФ, проте вміст останньої свідчить про переважання швидкості гідролізу макроерга.

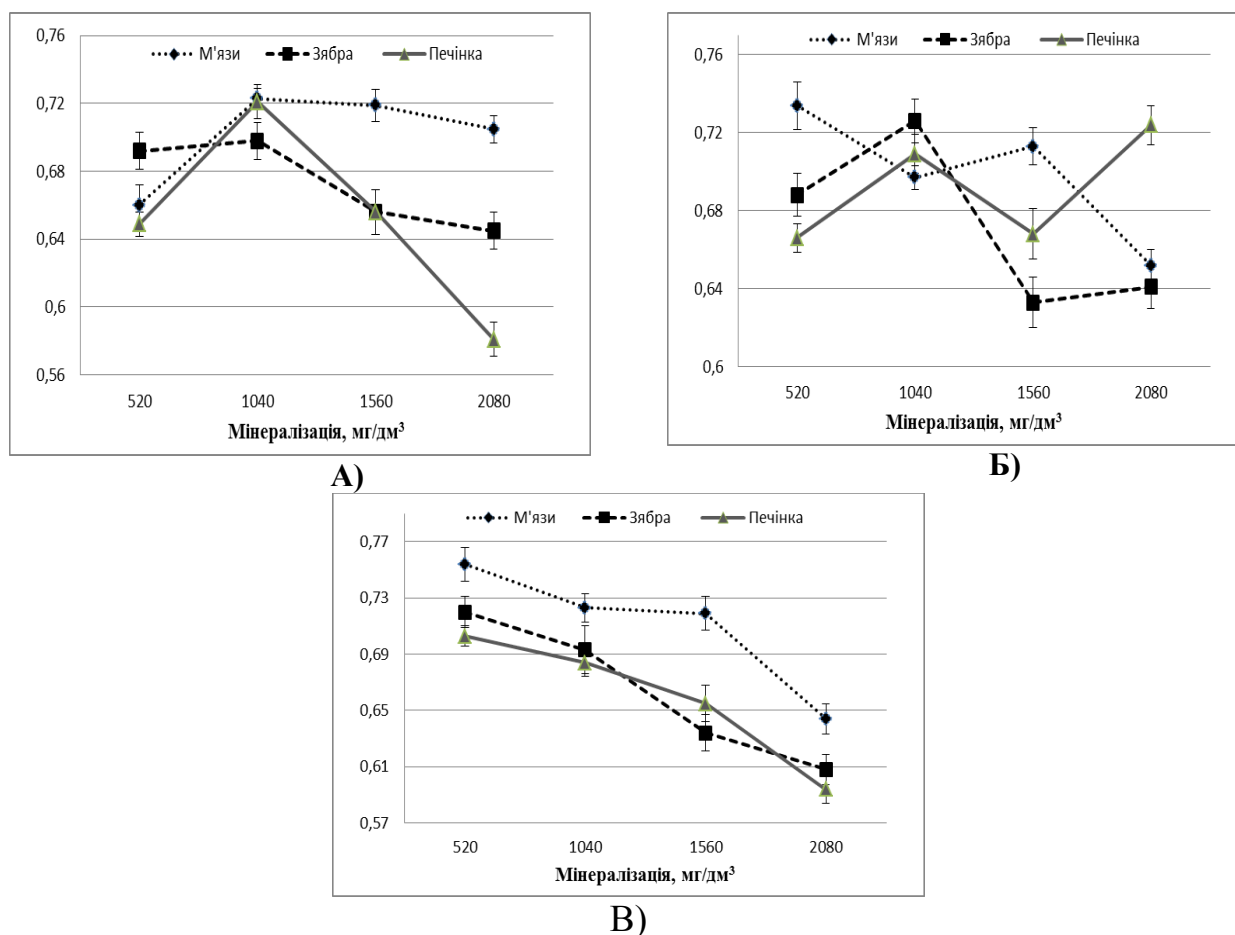


Рис. 4.16. Динаміка величини аденілатного енергетичного заряду в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Враховуючи величину показника енергетичного заряду в характеристиці рівня енергетичного забезпечення тканини коропа, можна припустити, що збільшення швидкості утилізації аденілових нуклеотидів при підвищенні мінералізації води супроводжується включенням компенсаторних механізмів, спрямованих на попередження зниження рівня енергетичного забезпечення гепатоцитів [209]. Не виключено, що одним із таких механізмів є зниження швидкості аденілаткіназної реакції та сповільнення утилізації АМФ [7].

Нами було встановлено, що в м'язах окуня з підвищенням мінералізації води величина ЕЗ незначно знижувалась, та за концентрації солей у воді $2,0 \text{ г/дм}^3$ становила різницю з контролем 13% (рис. 4.16). Оскільки вміст АТФ у м'язах вірогідно знижувався, то це свідчить про сповільнення його генерування на противагу активації розпаду [110]. Різниця між АДФ та АМФ з підвищенням

мінералізації води зменшувалась, що також вплинуло на величину ЕЗ та свідчить про перехід міоцитів окуня у стан заощадження енергії.

У зябрах окуня ЕЗ із підвищенням мінералізації води вдвічі порівняно з контролем незначно зростав та надалі знижувався з підвищенням концентрацій солей у воді (рис. 4.16). Ці зміни спричинені суттєвою реорганізацією компонентів аденілатного пулу у зябрах риб, а саме зниженням частки АТФ та АМФ, та значним підвищенням частки АДФ. В силу взаємокомпенсації на сумарній кількості аденілатів це відобразилось малою мірою, проте зниження кількості високоенергетичного фосфату свідчить про інтенсивне його дефосфорилювання із утворенням АДФ. Це зумовлює розвиток у клітині низькоенергетичного стану на період дії несприятливого чинника.

У печінці окуня підвищення мінерального режиму води стимулювало нерівномірне та незначне підвищення величини ЕЗ. Ці зміни можуть бути спричинені зміщенням рівноваги між АТФ, АДФ та АМФ в бік зростання частки АТФ та АМФ при одночасному зниженні вмісту АДФ. Очевидно АТФ активно утворювалась внаслідок фосфорилювання свого попередника – АДФ. Однак така реакція може бути не тривалою, оскільки подальше підвищення ЕЗ буде інгібувати синтез АТФ [217]. Тому варто відмітити, що на дію підвищеної мінералізації води окунь реагує активацією біоенергетичних процесів у печінці.

Мінеральний режим води спричиняв в організмі плітки зміни ЕЗ подібні до окуня. Так, за умов експерименту зафіксовано закономірне зниження його величини у м'язах, зябрах та печінці плітки в 1,17, 1,20 та 1,19 раза відповідно щодо контролю при 2,0 г/дм³ (рис. 4.16). Очевидно, підвищення концентрацій солей у воді активує енергозатратні процеси в тканинах плітки, що впливає на біоенергетичний стан організму. Також, ці зміни свідчать про розвиток дефіциту енергії в організмі плітки, що відображається у недостатній інтенсивності фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів, та, як наслідок, малій інтенсивності ресинтезу АТФ. На протидію підвищенню мінералізації води плітка залучає більше енергетичних ресурсів, ніж короп та окунь.

Отже, аналіз стану системи АТФ-АДФ-АМФ у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води вказує на зміни інтенсивності фосфорилування та дефосфорилування, спрямованості аеробних та анаеробних процесів. Також, перебудову енергетичного обміну, зокрема зниження загального внутрішньоклітинного вмісту аденілових нуклеотидів знижує адаптаційні можливості організму в умовах дії негативних чинників.

У м'язах та печінці коропа зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення ІФ у 1,81 та 1,33 раза відповідно щодо контролю за мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.17). Надалі при підвищенні мінералізації води до $2,0 \text{ г/дм}^3$ спостерігалась тенденція до зниження величини цього коефіцієнту, проте в м'язах ІФ залишився більшим за контроль у 1,53 раза за максимальної мінералізації.

Очевидно, м'язи коропа характеризуються активацією фосфорилування низькоенергетичних фосфатів в умовах експерименту. У печінці інтенсивність процесу за максимальної мінералізації практично зрівнялась з контролем, що свідчить про адаптивне пристосування на рівні цього органу до дії підвищеного мінерального режиму води. Зябра коропа на умови експерименту реагували нерівномірним та незначним зниженням ІФ з підвищенням мінералізації води. Однак, ці зміни не суттєві, що майже не відобразилось на співвідношенні компонентів аденілатного пулу та біоенергетиці органу в цілому.

Щодо окуня, то зафіксовано підвищення величини ІФ у його м'язах у 1,22 раза щодо контролю за мінералізації води $1,5 \text{ г/дм}^3$, та вірогідне його зниження із подальшим збільшенням концентрації солей у воді (рис. 4.17). Зябра зазначеного виду на умови експерименту реагували незначним підвищенням величини коефіцієнта за мінералізації $1,0 \text{ г/дм}^3$, та зниженням ІФ у 1,71 раза щодо контролю за $2,0 \text{ г/дм}^3$.

Очевидно наявні умови пригнічують функціонування мітохондріального дихання у тканинах окуня, результатом чого є зниження інтенсивності фосфорилування. Однак, цей процес може компенсуватися за рахунок гліколізу, що має набагато меншу продуктивність, однак дозволяє функціонувати в умовах дії несприятливого чинника. Вірогідно, значна

кількість енергії витрачається на забезпечення процесів йонного обміну у тканинах окуня, що значно випереджає ресинтез АТФ, однак дещо компенсується за рахунок АДФ [26, 141].

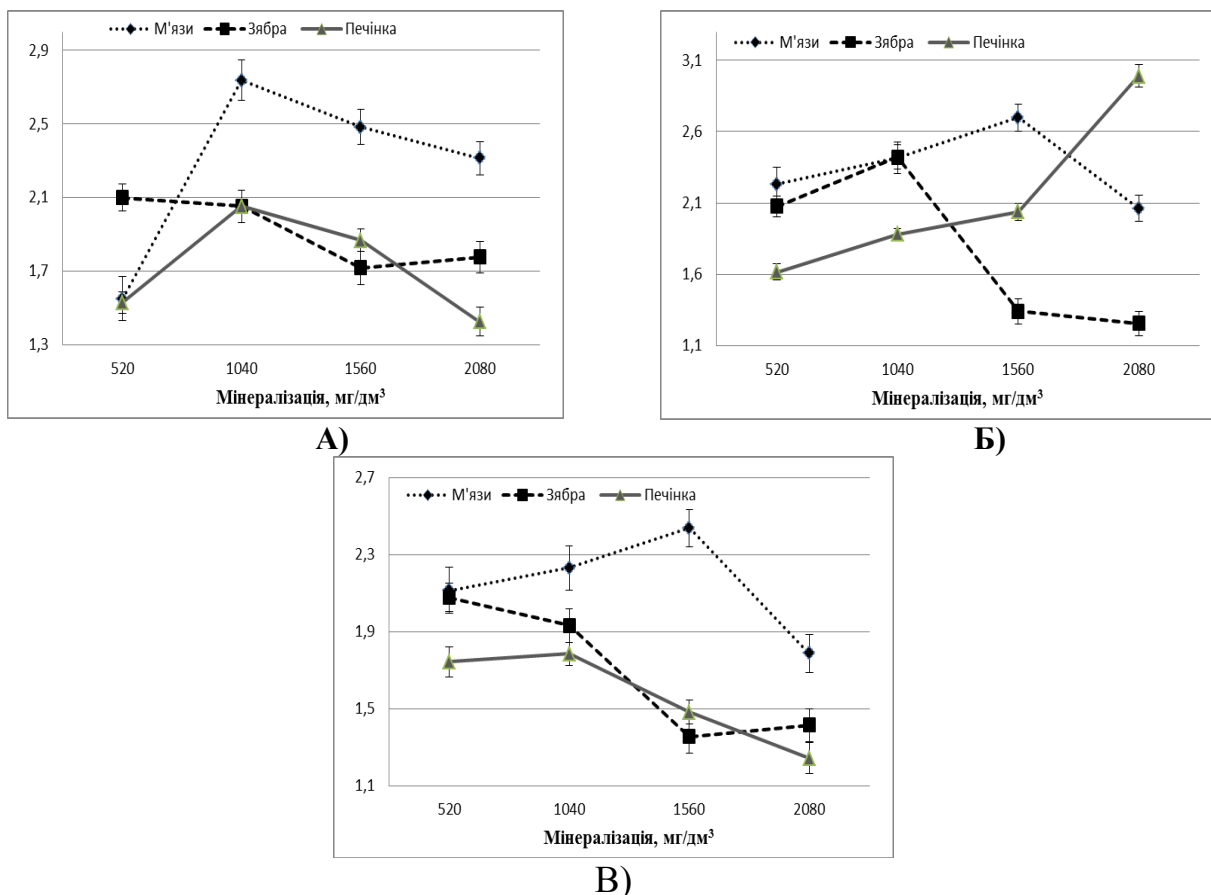


Рис. 4.17. Динаміка величини індексу фосфорилювання в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Величина ІФ у печінці окуня вірогідно ($p \leq 0,05$) зростала за умов експерименту, та за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ становила різницю із контролем у 1,81 раза (рис. 4.17). Очевидно печінка характеризується високою інтенсивністю фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів, що супроводжується активацією синтезу АТФ. Не виключено, що це адаптивна реакція окуня на забезпечення нормального функціонування йонообмінних процесів у гепатоцитах.

Щодо плітки, то відмічено концентраційнозалежну динаміку ІФ у її тканинах за умов експерименту. Так, у м'язах плітки, як і в окуня, зафіксовано незначне зростання ІФ у 1,16 раза щодо контролю за мінералізації води $1,5$

г/дм³, та вірогідне його зниження із подальшим збільшенням концентрації солей у воді, що за максимальної її величині становило різницю із контролем 21%. В зябрах риб величина ІФ була мінімальною за мінералізації води 1,5 г/дм³, а саме дорівнювала 1,35, що менше за контроль на 53%. Печінка плітки характеризувалась вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням ІФ з підвищенням мінералізації води.

Очевидно, зазначені зміни спричинені різким зменшенням частки АТФ порівняно із АДФ та АМФ у тканинах плітки. У її зябрах та печінці це явище виражено у більшій мірі. Однак у печінці зафіксовано підвищення сумарного вмісту аденілатів, на відміну від зябер та м'язів. Значна частина аденілатного пулу печінки плітки представлена низькоенергетичними фосфатами, що свідчить про інтенсивне дефосфорилювання АТФ. Відповідна величина ІФ це підтверджує. Перерозподіл компонентів аденілатної системи у тканинах плітки може бути короточасним та повернутись у контрольне співвідношення після дії несприятливого чинника [26].

За умов експерименту для більш глибокого розуміння біоенергетичних процесів, що відбуваються в тканинах риб нами також була розрахована величина коефіцієнту порівняння (КП), що показує співвідношення прямої і зворотної реакції перетворення АДФ [10, 123].

За підвищення мінералізації води до 2,0 г/дм³ зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) зростання величини КП у м'язах та зябрах коропа в 1,64 та 1,22 раза відповідно відносно контролю (рис. 4.18). У печінці після незначного зростання КП за мінералізації 1,0 г/дм³ надалі встановлено тенденцію до поступового зниження величини показника по мірі збільшення вмісту солей у воді.

Зазначені зміни є підтвердженням активного функціонування як прямої, так і зворотної реакції перетворення АДФ, оскільки у м'язах та зябрах коропа спостерігається накопичення як АТФ, так і АМФ. У печінці коропа з підвищенням мінералізації води вміст АДФ поступово знижується, що є наслідком пригнічення прямої реакції її фосфорилювання. Підтвердженням

цього також є зниження рівня АТФ, що свідчить також про пригнічення її ресинтезу.

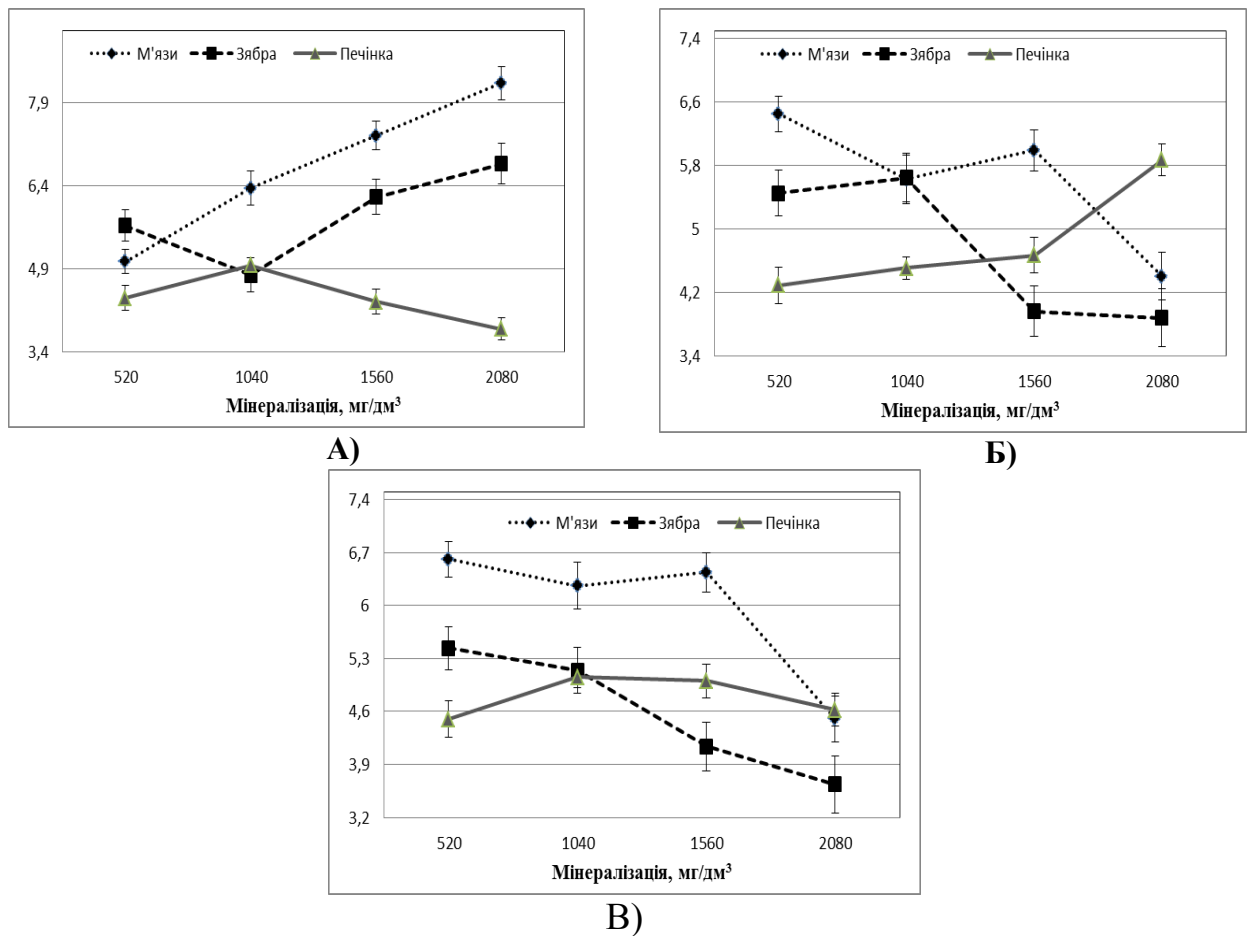


Рис. 4.18. Динаміка величини коефіцієнта порівняння в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

У м'язах та зябрах окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження КП у 1,36 та 1,42 раза відповідно відносно контролю за мінералізації води 2,0 г/дм³ (рис. 4.18). У печінці підвищення концентрації солей у воді стимулювало зростання величини КП, та за 2,0 г/дм³ вона становила різницю із контролем у 1,40 раза.

Очевидно, що із підвищенням мінералізації води у м'язах та зябрах окуня реакції гідролізу АТФ переважають над її ресинтезом. У печінці ж зазначеного виду пригнічується фосфорилювання низькоенергетичного фосфату (АМФ) [219]. Ці зміни є свідченням низької інтенсивності енергогенеруючих процесів в організмі окуня, що компенсується за рахунок анаеробних шляхів генерування енергії. Однак, відповідна адаптивна реакції дозволяє організму

окуня функціонувати в умовах надмірного надходження йонів із води у тканини.

Плітка, подібно до окуня, на підвищення мінералізації води реагувала зниженням КП у м'язах та зябрах у 1,46 та 1,51 раза відповідно щодо контролю при $2,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.18). У її печінці очевидно відбулося пристосування до чинника за величиною КП, оскільки за максимальної мінералізації води його величина була на рівні контролю. Це свідчить про збільшення вмісту АДФ та АМФ у гепатоцитах плітки, тоді як вміст АТФ практично не змінювався. Вірогідно тут має місце незначне дефосфорилювання АТФ та синтез АДФ із свого попередника, який також утворювався *de novo* [220]. У м'язах та зябрах плітки відповідний рівень КП свідчить про деяке використання АДФ на синтез АТФ. Однак за активністю ферментів енергетичного обміну можна дійти висновку, що відповідний ресинтез АТФ відбувається за рахунок активації малоефективних гліколітичних процесів.

Ще одним важливим критерієм при дослідженні біоенергетичного стану організму є енергетичний потенціал клітини (ЕП) [123]. Цей показник свідчить, у певній мірі, про швидкість мітохондріального дихання в тканинах організму [221].

За мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) підвищення ЕП у м'язах коропа у 1,76 раза щодо контролю (рис. 4.19). Надалі із підвищенням мінералізації води величина коефіцієнта дещо знижувалась, проте за $2,0 \text{ г/дм}^3$ залишилась більшою за контроль у 1,53 раза.

У печінці коропа відмічено параболічну концентраційнозалежну динаміку величини ЕП, а за максимальної мінералізації води цей показник був на рівні контролю. Очевидно, для забезпечення осмотичного балансу у тканинах короп підвищує енергетичний потенціал клітин у своїх органах, тим самим забезпечуючи переважання енергогенеруючих процесів над енергозатратними. Варто відмітити, що зазначені зміни більшою мірою компенсуються за рахунок окиснювального фосфорилювання. Тому організм

коропа генерує достатню кількість енергії на забезпечення осмотичного балансу у тканинах.

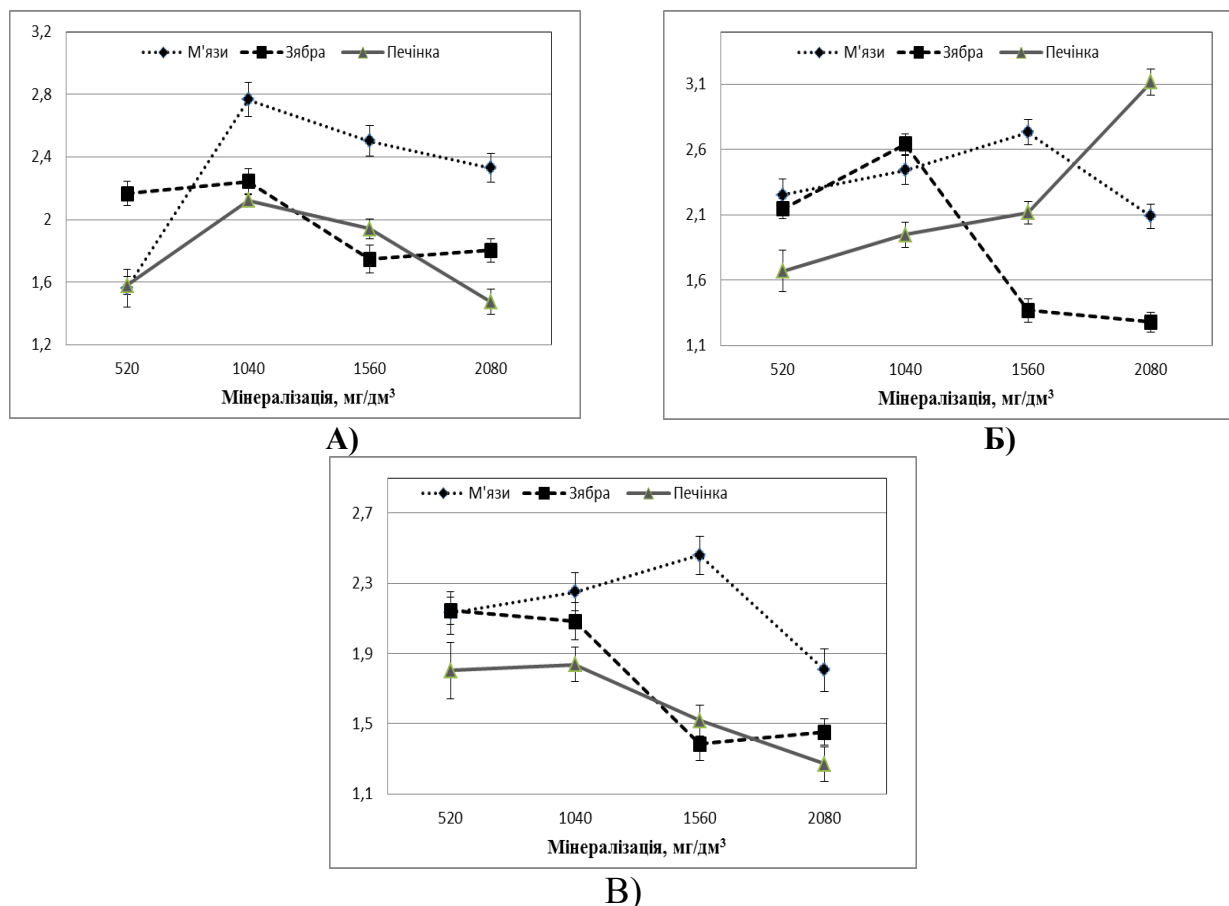


Рис. 4.19. Динаміка величини енергетичного потенціалу в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо окуня, то величина ЕП у його тканинах корелює із динамікою ІФ. А саме, встановлено підвищення величини ЕП у його м'язах на 24% щодо контролю за мінералізації води 1,5 г/дм³, та вірогідне його зниження з подальшим збільшенням концентрації солей у воді (рис. 4.19). Зябра риб на умови експерименту реагували початковим підвищенням величини коефіцієнта на 25% за експозиції 1,0 г/дм³, та зниженням ЕП на 68% щодо контролю за мінералізації води 2,0 г/дм³. Очевидно, у м'язах та зябрах окуня активно використовується АТФ на забезпечення транспорту йонів через мембрани клітин, що виражається у зменшенні ЕП та активації субстратного фосфорилування. Також величина ЕП в печінці риб може свідчити про

дефосфорилювання АДФ, що підтверджується підвищенням рівня АМФ та негативно впливає на забезпечення мітохондріального дихання в цій тканині.

У м'язах плітки величина ЕП, як і в окуня, спочатку підвищувалась при зростанні мінералізації води до $1,5 \text{ г/дм}^3$, та надалі її підвищенням вірогідно знижувалась. У зябрах та печінці риб зафіксовано закономірне зниження цього показника на 52 та 41% відповідно щодо контролю при $2,0 \text{ г/дм}^3$ (рис. 4.19). Очевидно, що у зябрах та печінці встановлені зміни викликані активацією синтезу АДФ. Також відповідна реорганізація може бути спричинена пригніченням синтезу АТФ в організмі плітки, попередником якого є АДФ. Опираючись на величину сумарної кількості аденілатів у м'язах та зябрах плітки, варто припустити незначне енергетичне виснаження тканин риб в умовах підвищеної мінералізації води [26, 39].

Термодинамічний контроль дихання (ТКД) – це показник, що вказує на залежність швидкості мітохондріального дихання не від концентрації окремих компонентів аденілнуклеотидної системи, а від стану фосфорилювання.

У м'язах коропа зафіксовано найнижчий порівняно з контролем рівень ТДК за мінералізації води $1,0 \text{ г/дм}^3$ (різниця з контролем у 1,31 раза) (рис. 4.20). Проте, при інших досліджених величинах мінералізації ТДК також залишався меншим від контролю. До вагомих змін також варто віднести початкове підвищення коефіцієнту у печінці риб при $1,0 \text{ г/дм}^3$, та вірогідне ($p \leq 0,05$) його зниження з підвищенням мінералізації води, що за $2,0 \text{ г/дм}^3$ становив різницю із контролем у 1,59 раза.

Очевидно, зменшення величини цього коефіцієнта у зябрах та печінці коропа свідчить про активацію клітинного дихання [220]. Однак, судячи із співвідношення аденілових нуклеотидів, у печінці риб використання АТФ значно перевищує його ресинтез. У м'язах коропа вміст АТФ вірогідно підвищується із зростанням мінералізації води, що підтверджується відповідною величиною ТДК та свідчить про генерування енергії за рахунок аеробного дихання.

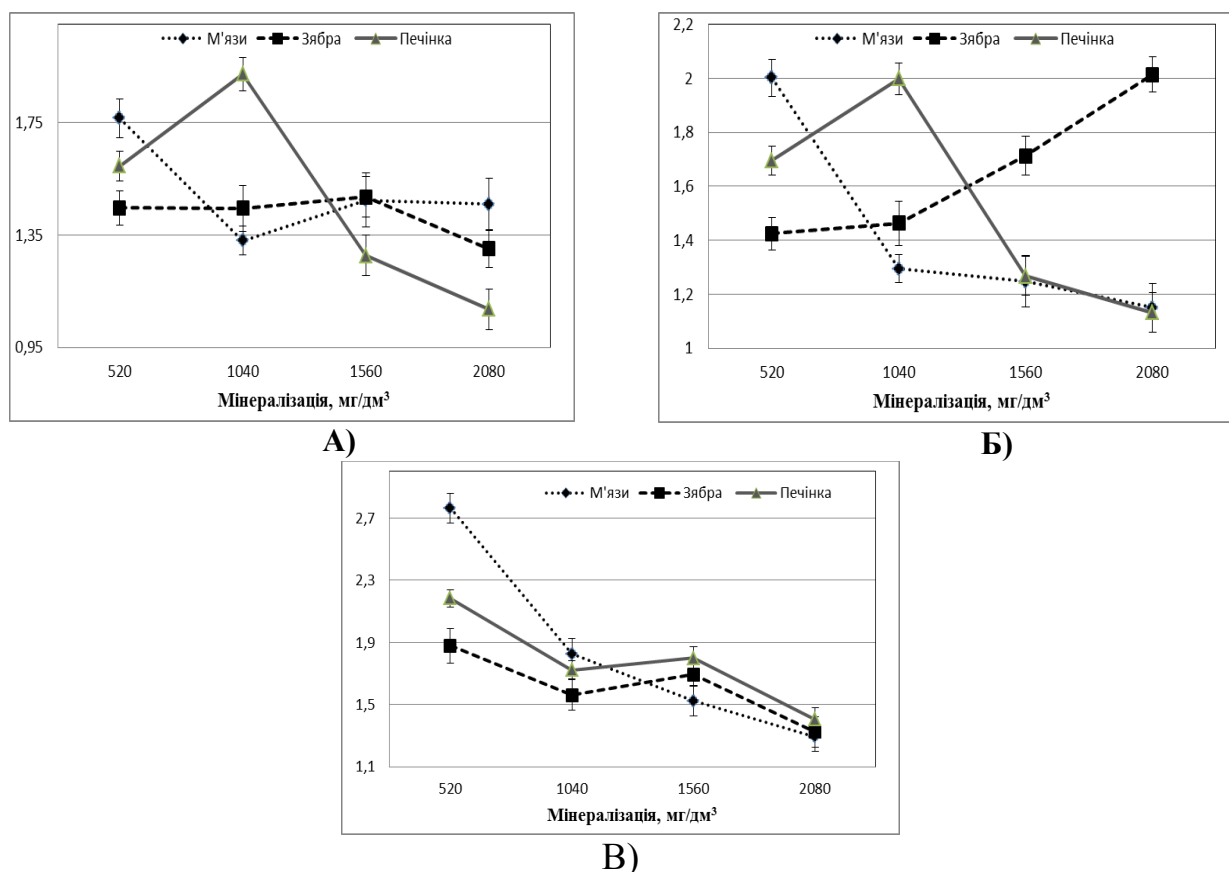


Рис. 4.20. Динаміка величини термодинамічного контролю дихання в тканинах коропа (А), окуня (Б) та плітки (В) за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

У м'язах окуня динаміка ТДК за умов експерименту подібна до коропа, однак мінімальної величини коефіцієнт набув за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ та становив різницю із контролем у 1,75 раза (рис. 4.20). Зябра риб на підвищення мінералізації води реагували зростанням ТДК на 40% щодо контролю за $2,0 \text{ г/дм}^3$. За цих умов у печінці окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження ТДК у 1,50 раза відносно контролю.

Відмічені зміни свідчать про різні механізми пристосування окуня до підвищення мінералізації води на тканинному рівні. У м'язах всупереч зниженню рівня АТФ, ТДК також вірогідно зменшується, що вказує недостатню інтенсивність тканинного дихання та забезпечення енергією міоцитів [71, 204].

У печінці окуня зниження величини ТДК призводить до активації тканинного дихання, що виражається у підвищенні рівня АТФ. У зябрах

величина коефіцієнту вірогідно підвищується, що веде за собою пригнічення процесів тканинного дихання та інгібування синтезу високоенергетичного фосфату [13].

У плітки встановлено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження величини ТДК у м'язах зябрах та печінці в 2,09, 141 та 1,55 разів відповідно щодо контролю за мінералізації води 2,0 г/дм³ (рис. 4.20). Активність ферментів енергетичного обміну (СДГ, ЦО) у тканинах риб за умов експерименту також вірогідно знижується. Це свідчить про низьку інтенсивність клітинного дихання в організмі та переключення енергозабезпечення тканин на анаеробний шлях. Очевидно, значна кількість енергії витрачається організмом плітки на забезпечення осморегуляційних процесів в силу підвищення концентрації солей у воді. При цьому ресинтез АТФ набагато повільніший за її гідроліз, що виражається у збільшенні частки АДФ та АМФ [220]. Ці зміни варто вважати пристосувальним механізмом плітки на час дії несприятливого чинника.

4.5. Вмісту окремих енергетичних субстратів у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води.

Відомо, що кількість енергії, що утворюється в процесі енергетичного обміну є визначальною при адаптації риб до нетипових умов існування. Часто енергія зберігається у вигляді запасних поживних речовин, зокрема у глікогену [172, 173, 174].

Наші дослідження показали концентраційнозалежне вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення вмісту глікогену у печінці коропа, що за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ становив різницю із контролем у 2,31 раза (рис. 4.21). Вміст глюкози в плазмі крові коропа суттєво знижувався за цих умов, що могло спричинити активацію глікогенезу в його печінці.

Подібна активація вуглеводного обміну спричинена дією підвищеної мінералізації води. Накопичення глікогену дасть змогу використовувати цей субстрат для забезпечення енергетичних потреб тканин організму коропа. Глюкоза може залучатись в гліколітичні процеси за умов, коли функціонування аеробного дихання пригнічується дією несприятливого чинника.

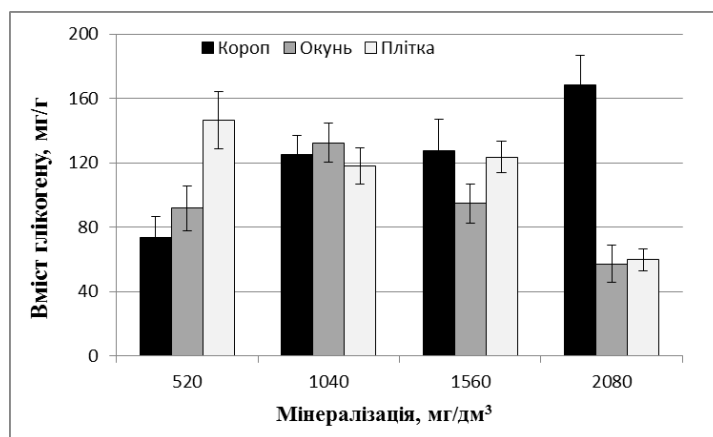


Рис. 4.21. Вміст глікогену у печінці риб за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

У печінці окуня вміст глікогену зростав на 45% щодо контролю за мінералізації $1,0 \text{ г/дм}^3$, та надалі знижувався по мірі її підвищення. Так, за $2,0 \text{ г/дм}^3$ його вміст був меншим за контроль на 59%.

Очевидно, за підвищення концентрацій солей у воді в печінці окуня відбувається активне залучення глікогену в процеси енергетичного обміну. Також ці зміни можуть бути результатом пригнічення синтезу глікогену, оскільки концентрація глюкози в плазмі крові окуня також вірогідно знижувалась. Не виключено також, що підвищена мінералізація води може інгібувати ферментативну систему глікогенезу у печінці окуня, що і відображається у неспроможності забезпечувати сталий рівень цього енергетичного субстрату [35, 222, 223].

Печінка плітки на підвищення мінералізації води реагувала зниженням концентрації глікогену в 2,47 рази відносно контролю за максимальної її величині (рис. 4.21). Вірогідно, що плітка, як і окунь, активно залучає глікоген в процеси енергетичного забезпечення адаптивних процесів. Також можливо, що процеси глікогенезу в печінці плітки також інгібуються дією підвищеної мінералізації води. Відповідні зміни можна розглядати як компенсаторну реакцію на час дії несприятливого чинника. В подальшому, за таких умов в організмі плітки може розвиватись гіпоенергетичний стан за рахунок дефіциту глікогену та продукту його розщеплення глюкози, що значно ускладнить умови її життєдіяльності [210, 211].

Зміна концентрації йонів у водному середовищі впливає і на процеси пластичного обміну в організмі риб. Обмін білків в їх тканинах також великою мірою залежить від мінерального складу води, адже ці субстрати поряд із іншими класами органічних сполук є вагомим джерелом енергії у адаптивних реакціях риб [7].

Наші дослідження показали практично однакову параболічну залежність вмісту загальних білків від ступеня мінералізації води в м'язах коропа та плітки (рис. 4.22). При цьому вміст білку була незначно меншим від контролю за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$. Виходячи з отриманих результатів, варто припустити, що за дії підвищеної мінералізації води короп та плітка активують альтернативні шляхи енергозабезпечення [10]. Але ці види залучають білки у процесах адаптації меншою мірою, ніж інші субстрати.

У м'язах окуня зафіксовано вірогідне ($p \leq 0,05$) незначне підвищення вмісту загальних білків порівняно з контрольною величиною, що вказує на незначну активацію біосинтетичних процесів у м'язовій тканині цього виду за дії підвищеної мінералізації води.

Щодо зябер риб, то у коропа та окуня за максимальної мінералізації $2,0 \text{ г/дм}^3$ води зафіксовано підвищення вмісту загальних білків на 46 та 29% щодо контролю (рис. 4.22). Враховуючи, що зябра є основним органом у процесах йонного обміну в організмі риб, то накопичення в них білків вказує на розвиток компенсаторних процесів у відповідь на дію підвищеної концентрації солей у воді.

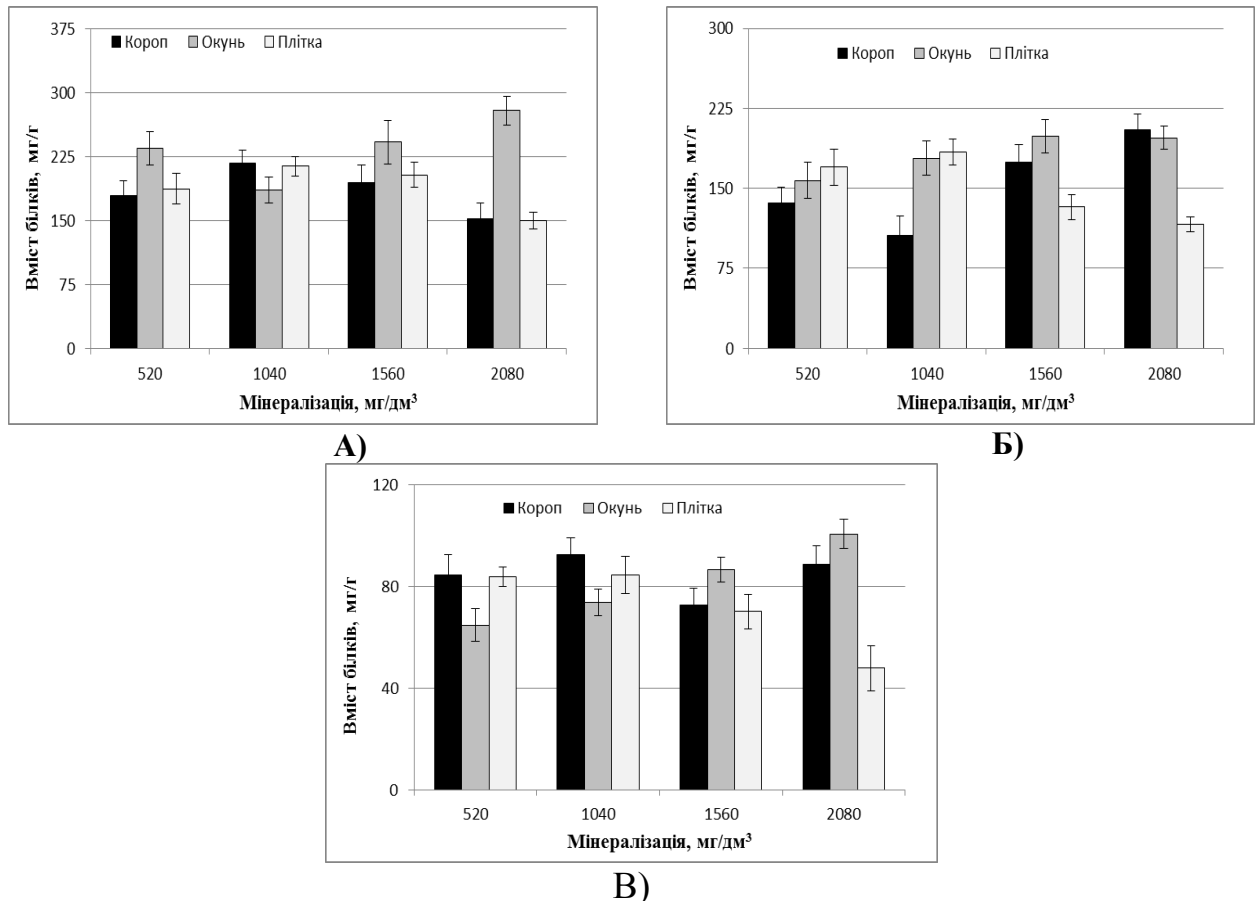


Рис. 4.22. Вміст білків в м'язах (А), зябрах (Б) та печінці (В) риб за дії підвищеної мінералізації води, ($M \pm m$, $n=5$).

Плітка на збільшення мінералізації води реагувала вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням вмісту загальних білків у зябрах на 38% щодо контролю за

максимальної величини. Очевидно, протилежно до коропа та окуня в зяберних пелюстках плітки білки використовуються як джерело енергії для забезпечення осморегуляційних процесів. За тривалої дії несприятливого середовища у білоксинтетичній системі зябер плітки можуть відбутися вагомі зміни, які призведуть до реорганізації процесів йонного обміну, а також активації альтернативних шляхів енергозабезпечення [35, 40].

У печінці риб за дії підвищеної мінералізації встановлено деяке підвищення вмісту загальних білків в окуня та їх зниження у плітки за мінералізації води $2,0 \text{ г/дм}^3$ на 72% відповідно (рис. 4.22). В коропа цей показник практично не змінювався. Очевидно, це пов'язано з різними видоспецифічними нормами адаптивних реакцій риб. Підвищення вмісту білків в окуня свідчить про активацію асиміляційних процесів у його гепатоцитах. У плітки зниження вмісту білків поряд із зниження вмісту глікогену в печінці вказує на переважання дисиміляційних процесів, а також залучення цих енергетичних субстратів у процеси адаптації [200, 64].

Отже, реакції досліджених видів риб на дію підвищеної мінералізації води варто вважати видоспецифічними. Збільшення концентрації йонів у воді викликає в організмі риб реорганізацію осморегуляційних процесів, що в більшості випадків проявляється в активації або інгібуванні основних шляхів генерування енергії. Також встановлено, що важливу роль в регулюванні цих процесів відіграє гормональна система риб, зокрема гормони щитоподібної та інтерренальної залози. Динаміка вмісту та співвідношення аденілових нуклеотидів вказує на те, що до дії цього чинника риби в основному пристосовуються через посилений синтез АТФ, використовуючи на це запаси основних енергетичних субстратів.

РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДОЙМ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН В ОРГАНІЗМІ РИБ.

Як вважають міжнародні експерти, однією із причин глобальної екологічної кризи є нагромадження величезної кількості відходів виробництва і побуту, що, в кінцевому результаті, потрапляють до водойм [53].

Більша частина хімічних речовин, що надходять у водойми із стічними водами та атмосферними опадами, є токсичними для гідробіонтів [57, 58]. Надлишок одних речовин у природному середовищі або наявність інших призводить до зміни екологічного стану водойми, що неминуче впливає на якісний та кількісний склад біоти. Це може відображатись на таких важливих показниках як біорізноманіття та продуктивність водойм [56, 59]. Також встановлено, що вплив різноманітних токсикантів на водні екосистеми має комплексний характер, а роль окремих компонентів не завжди можна виділити і оцінити. Окрім цього, відомо, що ступінь токсичності для організмів змінюється залежно від біології риб та їх фізіологічного стану у різні пори року. Особливо гостро ця проблема постає у містах, де в умовах урбанізації окрім промислових відходів у водойми зливаються стоки комунального господарства, які становлять близько 20% від загальної частки стічних вод [53]. За таких умов у гідробіонтів формуються компенсаторні механізми у відповідь на дію токсикантів різної природи, що, в першу чергу, відображається у зміні активності метаболічних процесів.

Розвиток інфраструктури м. Києва неминуче посилює антропогенне навантаження на міські водойми, тим самим погіршуючи екологічну ситуацію навіть у відносно благополучних гідроекосистемах [29, 190]. Якість водного середовища визначається наявністю різного роду токсикантів у воді, донних відкладах та організмах гідробіонтів. Хімічні методи вимірювання кількості ксенобіотиків дозволяють встановити лише їх відповідність існуючим нормам, проте реальний біологічний ефект мало враховується. У зв'язку з цим виникає

необхідність у розробці достовірних методів та критеріїв екологічної оцінки водойм, а також токсикологічного контролю за їх станом [59]. Одними з таких критеріїв можуть бути зміни біохімічних показників гідробіонтів. Зокрема, це стосується величини вмісту білка, глікогену, аденілатів та активності основних ферментів енергетичного обміну (лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, АТФ-ази та цитохромоксидаза) у плазмі крові та тканинах риб, які можуть пояснити процеси адаптації риб до надмірного забруднення водойм у комплексі з дією абіотичних чинників [143, 156].

5.1. Гідрохімічний режим досліджуваних водойм м. Києва.

Використовуючи дані літературних джерел, санепідемстанції та власних досліджень, гідрохімічний режим дослідних озер був наступним (табл. 5.1 та 5.2):

Таблиця 5.1.

Гідрохімічний режим водойм м. Києва за літературними даними [31, 56, 60, 191, 192, 224], результатами санепідемстанції (*) та власними дослідженнями (**).

Показник	Оз. Кирилівське			Оз. Бабинне		
	Весна	Літо	Осінь	Весна	Літо	Осінь
NO_2^- , мг N/дм ³	0,50*	0,50	0,018	0,001	0,006	0,004
NO_3^- , мг N/дм ³	1,24	0,25	0,816	0,053*	0,045*	0,019-0,029
NH_4^+ , мг N/дм ³	1,028	0,504	1,620	0,265	0,267	0,43
Фосфати, мг P/дм ³	0,154	0,042	0,323	0, 02	0,021	0,016
БО, мг O_2 /дм ³	36,65	29,09	27,44	19,3	20,8	23,5
ПО, мг O_2 /дм ³	8,66*	11,8*	9,92*	-	12,45 – 13,37	13,8
pH	7,8	8,04	8,2	7,8	8,0	7,75
Розчинений кисень, мг/дм ³	6,5 – 10,0**	18,5**	8,9**	8-12**	8-11**	8,05**
Загальна жорсткість, мг-екв./дм ³	4,6*	4,7	4,9	3,9*	3,5	3,6

Сухий залишок, мг/дм ³	520-640*	520-573*	506,0*	230*	281*	250*
Хлориди, мг/дм ³	118,8*	133,5	120,7*	27,0*	15,51*	19,9*
Сульфати, мг/дм ³	137*	60,0*	100*	27,6*	47,2*	22,2*
Mg, мг/дм ³	13,376*	-	11,42**	13,376 *	10,9	10,94
Ca, мг/дм ³	70, 14*	-	70,14 **	56,112*	52,1	54,121 **
Na, мг/дм ³	-	-	18,2 **	-	-	6,4**
K, мг/дм ³	-	-	13,23 **	-	-	5**

Озеро Кирилівське характеризується значно вищим рівнем азотного забруднення (висока концентрація NO_2^- , NO_3^- та NH_4^-) порівняно з озером Бабіне (табл. 5.1). Джерелом зазначених сполук може бути їх надходження в озеро разом із комунально-побутовими стоками, зокрема через річку Сирець. Наслідком цього є висока евтрофікація оз. Кирилівське, яка виражається у тривалому цвітінні води, що може характеризувати монодомінантність фітопланктону у водоймі [3]. Також у воді зазначеного озера весною встановлено значно вищу порівняно з оз. Бабіне концентрацію фосфатів (0,154 мгР/дм³) (табл. 5.1). Основним джерелом їх надходження у водойму можуть бути каналізаційні води, які містять у своєму складі значну частку фосфоровмісних миючих засобів.

Біхроматна окисність в оз. Кирилівське також вища ніж в оз. Бабіне, що свідчить про значний рівень його органічного забруднення. Підтвердженням цього є значна кількість сапрофітних бактерій у складі бактеріальних угруповань водойми [3]. Надходження у оз. Кирилівське значної кількості хлоридів та сульфатів свідчить про певний рівень мінерального забруднення водойми, що створює нетипові умови для існування риб басейну верхнього Дніпра (де середня мінералізація води становить 250-350 мг/дм³).

Також в оз. Кирилівському, поряд із високим вмістом хлоридів, відмічено значну порівняно з оз. Бабіне частку йонів Ca^{2+} та Na^+ (табл. 5.1), що також впливає на загальну мінералізацію водойми та співвідношення основних йонів. Жорсткість води в оз. Кирилівське також вища порівняно з оз. Бабіне, що також обумовлено значним вмістом йонів Ca^{2+} в зазначеній водоймі.

В оз. Кирилівське значно вища концентрація СПАР ніж у оз. Бабиному (табл. 5.2), джерелом надходження яких є комунально-побутові стоки. Висока концентрація цих речовин може як опосередковано (визначити кормову базу), так і безпосередньо впливати на життєдіяльність риб. Висока концентрація фенольних сполук в оз. Бабине може бути обумовлена автохтонним надходженням цих речовин внаслідок життєдіяльності вищих водяних рослин. В свою чергу значна кількість фенолів в оз. Кирилівське скоріше за все обумовлено алохтонним надходженням цих речовин з прилеглою промислової зони регіону. Значна концентрація нафтопродуктів в оз. Кирилівське може пояснюватись географічним розташуванням водойми, зокрема на близькій відстані до автозаправних станцій та автошляхів.

Також в оз. Кирилівське встановлено значно вищу концентрацію міді, цинку, кобальту та нікелю (табл. 5.2). Частина цих металів може впливати на активні центри ферментів в організмі риб, тим самим корегуючи їх активність. Окрім цього, високий концентрація цих металів у водоймі сприяє їх надходженню в організм риб безпосередньо (через травний тракт, зябра) або опосередковано (через трофічні ланцюги живлення). Також, підвищена концентрація нікелю в оз. Кирилівське (табл. 5.2) є індикатором його антропогенного надходження, оскільки в природних водоймах його вміст вважається відносно сталим.

Тому, враховуючи гідрохімічний режим та токсикологічну характеристику дослідних водойм, озеро Кирилівське відзначається як водойма з високим рівнем антропогенного забруднення, ступінь якого може змінюватися протягом років та сезонів. Зазначені умови є нетиповими для існування водяних тварин, тому для дослідження була обрана саме ця водойма. В свою чергу оз. Бабине суттєво відрізняється за цими показниками від оз. Кирилівське та вважається водоймою з природними, відносно сталими екологічними умовами, типовими для риб басейну верхнього Дніпра. Тому ця водойма була обрана як контроль.

Таблиця 5.2.

Вміст деяких токсичних сполук у водоймах м. Києва за літературними даними [3, 31, 56, 191, 192], результатами санепідемстанції (*) та власними дослідженнями (**).

Показник	Оз. Кирилівське	Оз. Бабине	ГДК
СПАР, мг/дм ³	0,043–0,45	-	0,1
Феноли, мг/дм ³	0,167– 0,225	0,107-0,155	0,001
Нафтопродукти, мг/дм ³	0,194,4–0,492	0,085	0,05
Cr(III), мкг/дм ³	13,7	11,4-33,6	5
Pb, мкг/дм ³	39,9	32**	100
Cu, мкг/дм ³	39,4	8**	1
Zn, мкг/дм ³	89,0	35,1**	10
Mn, мкг/дм ³	80,5	90,9**	100
Ni, мкг/дм ³	52**	12**	10
Fe, мкг/дм ³	670*	540*	100
Cd, мкг/дм ³	0,06**	<0,05**	5
Co, мкг/дм ³	2,2**	0,59**	10

5.2. Вміст гормонів у плазмі крові риб в умовах антропогенного забруднення водойм.

За результатами досліджень встановлено, що у весняний період по закінченню нересту вміст трийодтироніну та тироксину в плазмі крові окуня із оз. Бабине у 4,78 та 1,18 рази відповідно вищий, ніж у окуня із оз. Кирилівське (рис. 5.1). Зростання ТЗ може свідчити про посилення окиснювальних процесів у тканинах риб, а його нижчий вміст ймовірно спричинений перепадами кисневого та температурного режиму.

Крім того можна припустити, що знижений вміст тиреоїдних гормонів у окуня із оз. Кирилівське є наслідком надмірного антропогенного навантаження на цю водойму в комплексі із виснаженістю риб у весняний період [49, 97]. Також, це свідчить про сповільнення катаболічних реакцій у їх тканинах у цей період. Як правило, у весняний період після зимівлі у риб всі обмінні механізми сповільнені [200]. Особливо це стосується процесів, пов'язаних із енергозабезпеченням організму риб. Відомо, що взаємоперетворення тироксину

та трийодтироніну у великій мірі залежить від рН води та йонного складу водного середовища [75, 97]. Враховуючи, що в оз. Кирилівське величина цих показників часто коливається внаслідок антропогенного забруднення акваторії солями хлоридів та сульфатів, вміст тиреоїдних гормонів в організмі риб при цьому змінюється пропорційно.

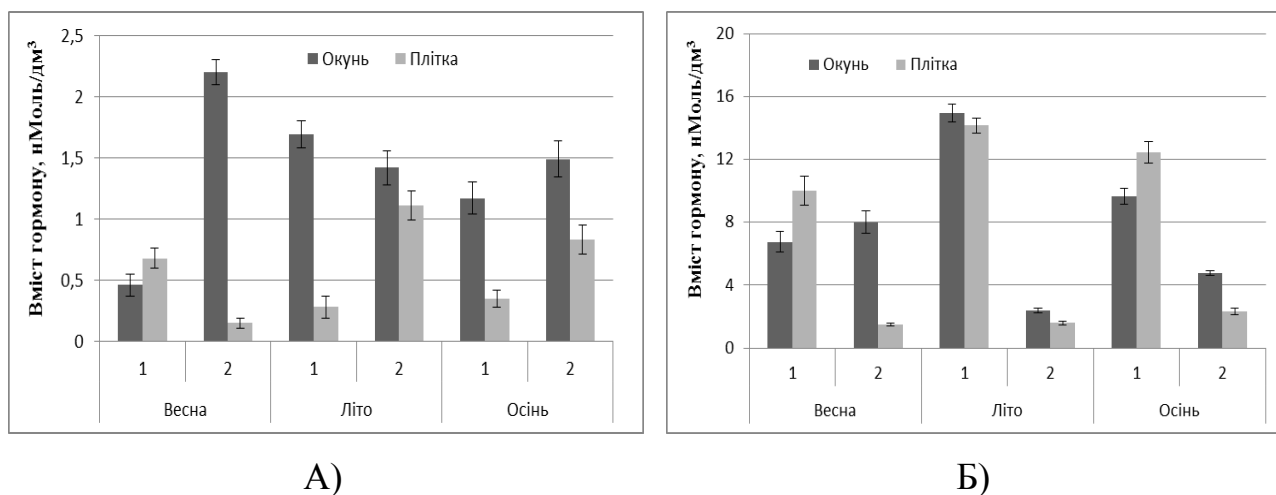


Рис. 5.1. Вміст трийодтироніну (А) та тироксину (Б) у плазмі крові окуня та плітки у весняний, літній та осінній періоди, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1. – оз. Кирилівське (Опечень II), 2– оз. Бабине.

Щодо плітки, то у неї спостерігається зворотна реакція за вмістом тиреоїдних гормонів на умови існування. У весняний період вміст цих гормонів у риб із оз. Кирилівське вірогідно ($p \geq 0,05$) вищий у 4,53 та 6,66 рази відповідно, ніж у плітки з оз. Бабиного (рис.5.1). Риби на цей період знаходились на етапі дозрівання статевих органів.

Плітка за антропогенним навантаженням виявилася більш пластичною, ніж окунь, та, вочевидь, активно протидіє несприятливому середовищу завдяки активації метаболічних реакцій, про що свідчить підвищений рівень тиреоїдних гормонів. Оз. Кирилівське підчас досліджень було більш прогрітим, ніж Бабине, тому температура води могла визначити підвищення рівня зазначених гормонів. Отже, зростання вмісту T4 можна пояснити більшою температурою води, яка є лімітуючим чинником при синтезі цього гормону [49, 225]. Крім того, більший вміст T3 може бути пов'язано з інтенсивним дозріванням гонад [163]. Відомо, що T4 та T3 у організмі риб можуть взаємозаміщуватися,

оскільки виконують майже ідентичні функції. Однак, найактивнішою формою цих гормонів у тканинах є Т3, оскільки йому властива більша спорідненість до гормональних рецепторів у тканинах, ніж Т4 [142, 170].

Влітку зміни вмісту тиреоїдних гормонів у риб має інший характер. Вміст трийодтироніну Т3 та тироксину Т4 в плазмі крові окуня із оз. Кирилівське відповідно у 1,19 та 6,22 рази вищий, ніж в окуня із оз. Бабіне. В свою чергу, вміст Т3 у плітки із оз. Бабіне становив 1,1 нМоль/дм³, що у 3,92 рази вище, ніж у риб із оз. Кирилівське (рис. 5.1). Вміст Т4 у плітки із оз. Кирилівське у літній період у 8,84 рази вищий, ніж у відповідного виду із оз. Бабіне. Таким чином, підвищення вмісту цих гормонів у плазмі крові у літній період може бути спричинено посиленням негативної дії токсикантів за вищих температур води [31]. На протидію антропогенним чинникам, окунь та плітка включають різні компенсаторні механізми. Такі фізіологічні перебудови можуть супроводжуватися інтенсифікацією генерування енергії внаслідок підвищення активності окисно-відновних реакцій, а також різним ступенем споживання кисню тканинами за ускладнених умов існування, зокрема посиленою евтрофікацією води [3, 200]. Але спостерігаються видові відмінності за нормою реакції до діючих чинників, що безпосередньо пов'язані з біологією риб, зокрема особливостями живлення риб та їх фізіології. Це, в цілому, може впливати на характер перерозподілу цих гормонів у плазмі крові. За умов інтенсивної евтрофікації водойми (оз. Кирилівське) плітка активно знижує вміст Т3 у плазмі крові, проте збільшує вміст Т4. У окуня ж вміст цих гормонів у крові зростає.

В осінній період вміст Т3 у плазмі крові окуня та плітки з оз. Бабіне була вищою, ніж із оз. Кирилівського в 1,27 та 2,37 рази відповідно. Щодо Т4, то вміст цього гормону був вищим у окуня та плітки із оз. Кирилівське в 2,02 та 5,37 рази відповідно (рис. 5.1). Для цих риб є характерним, що вміст Т4 в плазмі крові завжди значно переважає вміст Т3. Тому сумарний вміст тиреоїдних гормонів як у окуня, так і плітки істотно вищий у водоймі, яка в більшій мірі підлягає антропогенного забрудненню (рис. 5.2). Тобто не залежно від

сповільнення перебігу метаболічних процесів підчас підготовки риб до зимівлі за дії антропогенних чинників він залишається на високому рівні.

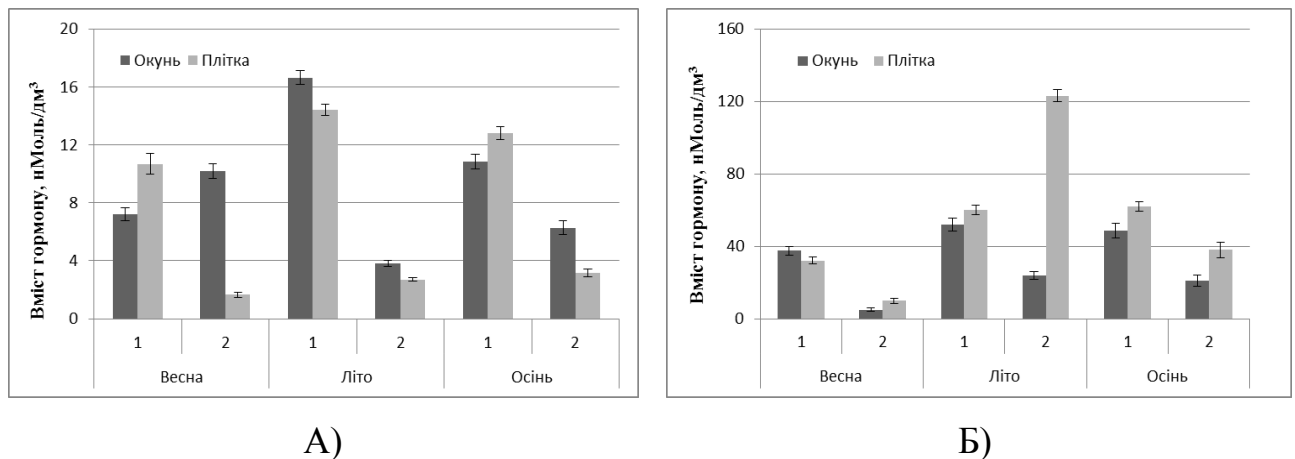


Рис. 5.2. Сумарний вміст (Т3+Т4) (А) та концентрація кортизолу (Б) у плазмі крові окуня та плітки у весняний, літній та осінній періоди, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень ІІ), 2– оз. Бабине.

Також, нами визначено вміст кортизолу у плазмі крові риб за різних екологічних умов їх існування. Відомо, що гормональний відгук на дію екологічних чинників істотно залежить від самої біології окремого виду [49, 156, 225].

Окунь та плітка у весняний період реагують на погіршення екологічних умов підвищенням вмісту кортизолу у крові, а саме відмічено $37,5 \text{ нМоль/дм}^3$ та 32 нМоль/дм^3 гормону відповідно у плазмі крові окуня та плітки із оз. Кирилівське проти 5 нМоль/дм^3 та 10 нМоль/дм^3 у риб із оз. Бабине (рис. 5.2). Це свідчить про те, що надмірне антропогенне навантаження на водойму впливає на зростання вмісту цього гормону [31].

У літній період порівняно із весняним вміст кортизолу у крові окуня в обох озерах пропорційно підвищується, проте зберігається вищеописана закономірність за впливом антропогенного навантаження. У плітки ж із оз. Бабине вміст кортизолу влітку в 2,05 рази вищий (рис. 5.2), ніж із оз. Кирилівського, що може свідчити про можливе порушення енергетичного обміну у риб із забрудненої водойми. Очевидно, адаптація цього виду риб до літніх умов існування проходить складніше, ніж в окуня.

Щодо осіннього періоду, то вміст гормону, який відповідає за розвиток стрес-реакцій, у риб із забрудненого озера вищий, ніж з контрольної водойми, а саме в 2,3 та 1,6 раза відповідно в окуня та плітки (рис. 5.2). Очевидно, зміна гідрохімічного режиму в оз. Кирилівське спричиняє інтенсивне використання енергетичних ресурсів організмом риб у передзимовий період. Також рівень кортизолу вказує про наявність стресового стану у риб, що є проявом компенсаторних механізмів на дію надмірного антропогенного забруднення оз. Кирилівське. Не виключено, що за роки свого перебування в цій водоймі риби пристосувались та зміни вмісту гормонів є типовими для досліджених видів за дії антропогенного навантаження на водойми.

5.3. Вміст глюкози у плазмі крові риб за дії антропогенного забруднення водойми.

Характер фізіологічного стану риб за дії суми діючих екологічних чинників також доцільно вивчати за вмістом глюкози у плазмі крові, як найдоступнішого джерела енергії для більшості живих організмів та надійного показника наявності стресових явищ [148].

Нами встановлено, що вміст глюкози у крові окуня та плітки з обох озер у весняний період майже не відрізнявся (5,85–6,86 мМоль/дм³) (рис. 5.3).

Проте, влітку різниця у величині цього показника у риб з різних водойм нами була зафіксована. Вміст глюкози у крові окуня із оз. Кирилівське становить 10,5 мМоль/дм³, що у 1,43 рази вище, ніж у риб із оз. Бабиного. У плітки із контрольного озера навпаки, концентрація глюкози в плазмі крові у 1,44 рази вища, ніж у відповідного виду із оз. Кирилівське. Знову ж таки, описані зміни можуть бути пов'язані із різним таксономічним статусом досліджуваних видів [200].

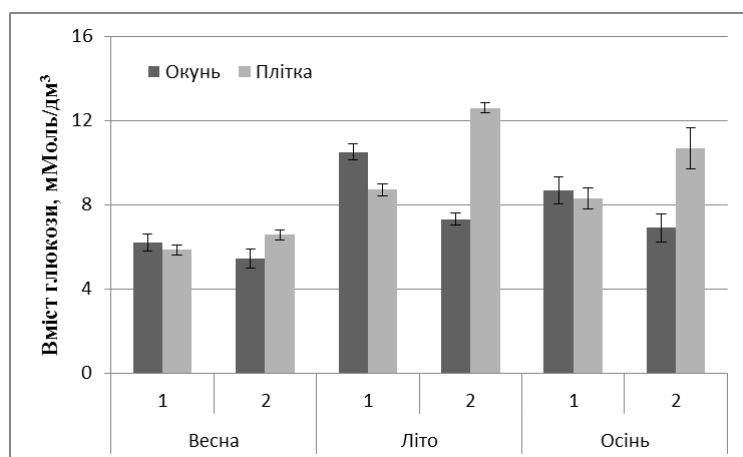


Рис. 5.3. Вміст глюкози у плазмі крові окуня та плітки у різні сезони року, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2– оз. Бабинне.

Очевидно, що в цей період у плазму крові окуня із Кирилівського надходить більша кількість глюкози для протидії токсичного впливу навколишнього середовища, однак її використання недостатньо інтенсивне. Зниження вмісту глюкози у плітки із оз. Кирилівське може бути наслідком підвищеної її утилізації для забезпечення енергетичного гомеостазу організму за подібних умов існування [150, 200]. Крім того, міжвидова різниця за змінами вмісту глюкози можливо пов'язана із різними способами та інтенсивністю її використання за конкретних екологічних умов, зокрема наявності токсикантів, йонного складу води та коливань температури.

В осінній період, як і влітку, зафіксовано подібні закономірності зміни вмісту глюкози у плазмі крові досліджених видів риби.

5.4. Сезонна динаміка активності ферментів енергетичного обміну в плазмі крові та тканинах риби за дії антропогенного забруднення водою.

Як зазначалось у попередніх розділах, стан енергетичного обміну риби доцільно вивчати за активністю окремих ферментів, зокрема СДГ та ЛДГ. Їх активність в плазмі крові риби свідчить про характер впливу чинника середовища на перебіг метаболічних реакцій в організмі риби. Вивчення

сезонної динаміці активності ферментів у крові риб також необхідне, оскільки в різні періоди року фізіологічні процеси у риб функціонують з різною інтенсивністю. Варто відмітити, що стан енергетичного обміну за дії комплексного впливу антропогенного забруднення водойм характеризує ступінь токсичності води для риб в різні пори року [9].

Нами зафіксовано зростання активності ЛДГ у плазмі крові окуня та плітки з оз. Кирилівське у літній період у 1,81 та 1,64 раза відповідно щодо риб із оз. Бабіне. У весняний та осінній періоди різниця за цим критерієм виражена меншою мірою (рис. 5.4).

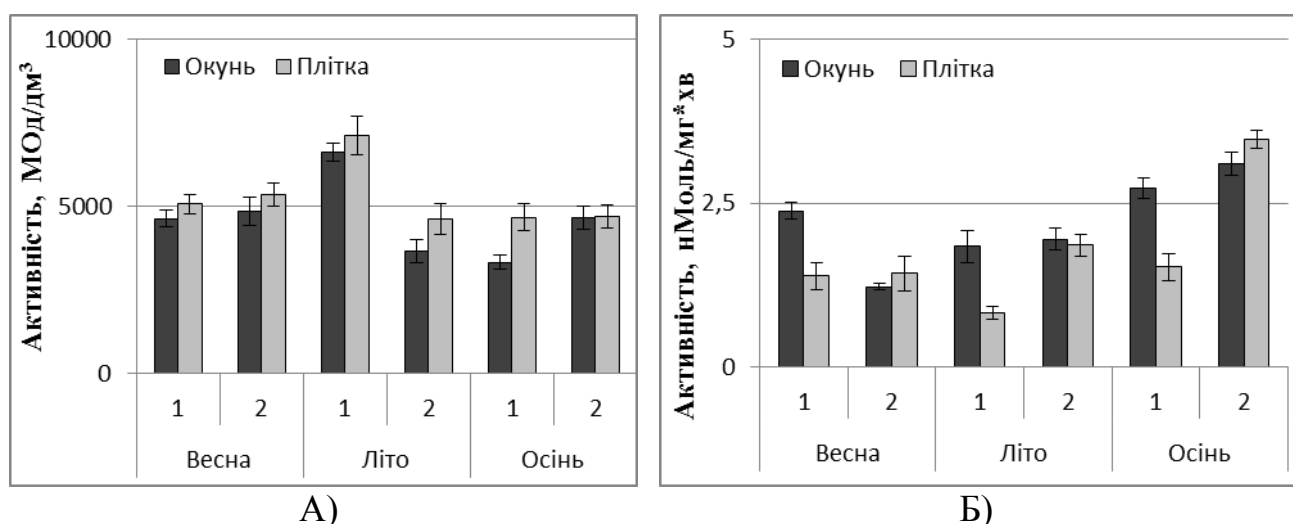


Рис. 5.4. Активність ЛДГ (А) та СДГ (Б) в плазмі крові риб за дії антропогенного забруднення, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2– оз. Бабіне.

Очевидно, влітку у риб із оз. Кирилівського переважаючим шляхом енергозабезпечення обмінних процесів є гліколіз. Також зростання активності ЛДГ в крові може свідчити про цитотоксичний вплив антропогенного забруднення на організм риб. Оскільки нами досліджена загальна активність ЛДГ, не визначені її ізоформи, то важко встановити локалізацію токсичного ураження та розвитку гіпоксії. Більш детально дослідити це явище дасть змогу визначення активності ЛДГ у тканинах риб. Враховуючи те, що на процеси детоксикації в тканинах риб потрібно затратити велику кількість енергії, то гліколітичні процеси не можуть забезпечити генерування достатньої кількості

АТФ [Коваль В.О., 2005]. Отже, варто припустити, що окунь та плітка з оз. Кирилівське в літній період знаходиться в гіпоенергетичному стані.

Щодо змін активності СДГ, то тут ситуація неоднозначна. У весняний період зафіксовано менша активність СДГ у плазмі крові окуня з контрольного озера в 1,95 раза порівняно з оз. Кирилівське (рис. 5.4). Очевидно в переднерестовий період у окуня із забрудненого озера активуються і аеробні процеси енергозабезпечення для генерування достатньої кількості енергії на протидію токсичному впливу зовнішнього середовища. Однак, оскільки зазначене підвищення активності ферменту спостерігається в крові, то знову ж варто припустити розвиток цитопатологій в тканинах риб. Відомо, що СДГ локалізується виключно в мітохондріях, отже зазначені зміни можуть вказувати на реорганізацію біологічних мембран [17, 65].

У літній та осінній періоди цей показник окуня з обох озер був однаковим. Для плітки відмічене зниження активності СДГ в особин із оз. Кирилівське в 2,25 та 2,28 раза відповідно щодо риб із оз. Бабине (рис. 5.4). Такі зміни варто розглядати як вірогідне пригнічення аеробних процесів в організмі плітки виду в літній та осінні періоди. Також в цьому випадку може мати місце ущільнення біологічних мембран у риб з оз. Кирилівське [93], яке викликано токсичною дією важких металів, вміст яких перевищує норму.

Отже, наші дослідження показали, що антропогенне забруднення, особливо в сезонному аспекті здійснює безпосередній вплив на перебіг енергетичного обміну в організмі риб. Найчастіше це виражається в переключенні метаболізму на анаеробних шлях, що при тривалій дії токсикантів може викликати розвиток гіпоенергетичного стану риб.

У зябрах плітки з оз. Кирилівське влітку зафіксовано найвищу активність лактатдегідрогенази ($P \leq 0,05$) (рис. 5.5) та найнижчу активність сукцинатдегідрогенази порівняно із іншими сезонами (рис. 5.6). Характерний є те, що активність ЛДГ у зябрах плітки з оз. Кирилівське в кожен досліджений сезон була вищою, ніж з оз. Бабине. Це вказує на переважання гліколітичних

процесів у респіраторному апараті цього виду. Подібні зміни можуть бути викликані значним вмістом багатьох токсикантів, які перевищують ГДК [3; 31].

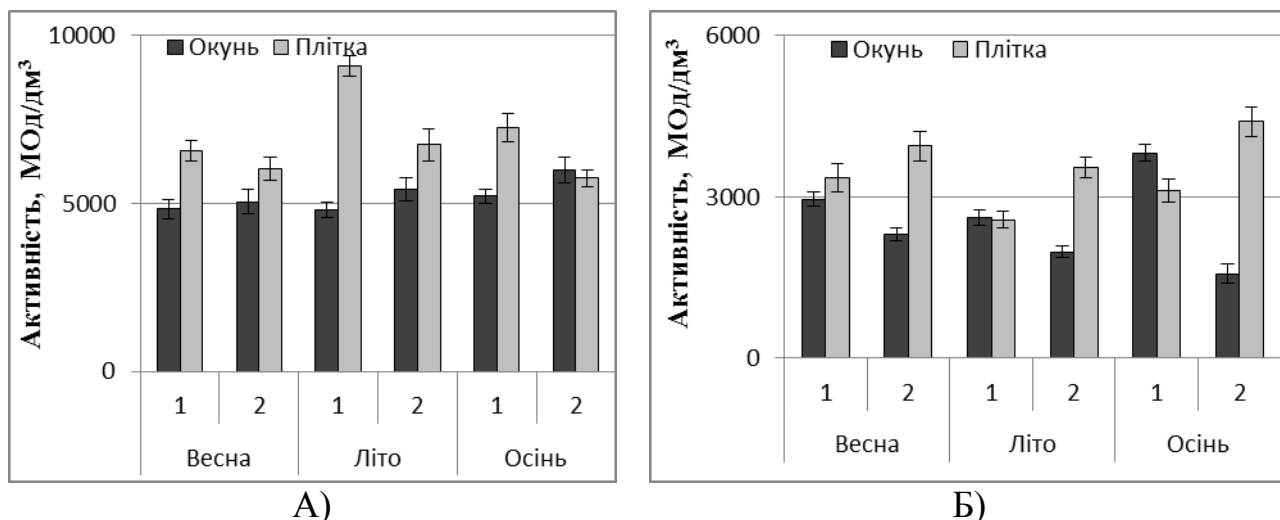


Рис. 5.5. Активність лактатдегідрогенази в зябрах (А) та м'язах (Б) риб за дії антропогенного забруднення, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2– оз. Бабіне.

Підвищення температури води в літній період підсилює токсичну дію забруднювачів, тим самим стимулюючи перехід метаболічних процесів риб на анаеробні процеси в силу розвитку гіпоксичного стану тканин.

В окуня з обох озер чіткої сезоннозалежної закономірності за активністю ЛДГ у зябрах не виявлено, проте в м'язах цей критерій протягом всіх сезонів був вищим в особин із оз. Кирилівське. При цьому, найбільшу різницю було встановлено восени, а саме зростання активності ЛДГ у м'язах окуня з оз. Кирилівського в 2,36 раза щодо риб з оз. Бабиного (рис. 5.5). Переважання гліколітичних процесів над аеробними у м'язах окуня з забрудненого озера може бути викликано наявністю у водоймі підвищеної кількості токсикантів. Також це може бути своєрідним механізмом ізоляції від негативної дії середовища, спрямованим на збереження енергетичних ресурсів у передзимовий період [33].

У м'язах плітки з оз. Кирилівське навпаки, зафіксовано зниження активності ЛДГ у весінній, літній та осінній періоди в 1,19, 1,37 та 1,41 раза відповідно щодо особин із контрольного озера. Очевидно, гліколіз у м'язових

тканинах плітки з дослідного озера менш задіяний, ніж у риб з оз. Бабиного. Окрім цього показано, що за величиною активності ЛДГ плітка володіє більшою варіабельністю, що надає їй лабільності в екологічно трансформованих умовах існування [225].

За змінами активності СДГ можна дійти висновку, що аеробні процеси у зябрах окуня із оз. Кирилівського в літній та осінній періоди пригнічуються. А саме, зафіксовано зниження активності СДГ у зябрах особин з озера в літній та осінній періоди в 3,36 та 4,55 рази щодо риб з контрольного озера (рис. 5.6). Причиною таких змін може бути пригнічення аеробного дихання у клітинах зябер окуня токсикантами, які знаходяться у оз. Кирилівське. Оскільки за активністю ЛДГ сезоннозалежних змін не виявлено, то очевидно в зябрах окуня основні механізми генерування енергії ускладненні. Не виключено, що це є розвинутою впродовж багатьох років перебування у цій водоймі адаптивною реакцією, що дозволяє цьому виду зберігати свої енергетичні ресурси.

Щодо плітки із оз. Бабине, то активність СДГ у її зябрах влітку становила 2,02 нМоль/мг×хв., що вище за весняні та осінні величини у 3,10 та 1,60 рази відповідно (рис. 5.6). Окрім цього, зазначена величина більша за активність СДГ у зябрах плітки з забрудненого озера в 7,76 рази. Подібна закономірність спостерігалась у всі сезони. Це може бути свідченням активного функціонування циклу трикарбонових кислот у зябрах риб влітку. На користь цього свідчить інтенсивне насичення поверхневих шарів води озера киснем. Враховуючи, що у глибоководних водоймах, яким є зазначене озеро поверхневі шари води перенасичуються киснем внаслідок евтрофікації (вміст O_2 становив 18,5 мг/дм³), то це могло відобразитись на активності ферментів енергетичного обміну, зокрема активності СДГ, що вказує на посилення окисно-відновних процесів у тканинах зябер риб, які займають пелагіальний шар води в озері [65, 200, 225].

Отримані результати свідчать про значне пригнічення аеробних процесів у зябрах плітки з озера, яке підлягає посиленому антропогенному впливу. Як відомо, оз. Кирилівське в результаті діяльності промисловості забруднюється

нафтопродуктами, СПАР, йонами важких металамів, пестицидами та біогенними елементами [3].

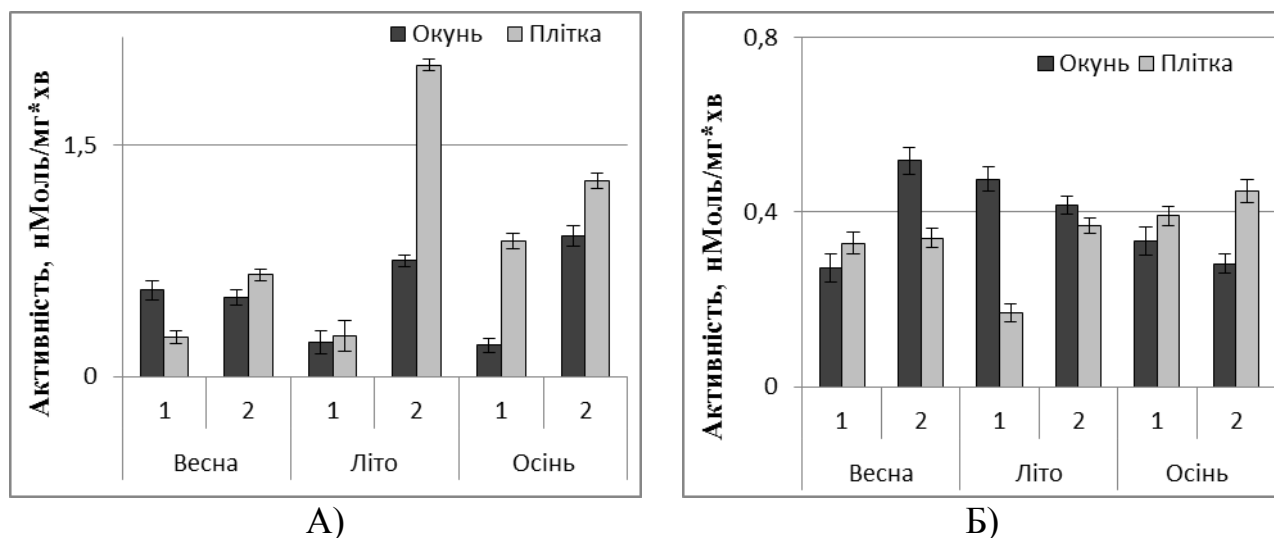


Рис. 5.6. Активність СДГ в з'ябрах (А) та м'язах (Б) риб за дії антропогенного забруднення, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень ІІ), 2– оз. Бабіне

Для протидії токсикантам риbam потрібно витратити багато енергії. Найефективніший спосіб її генерування є цикл Кребса. Однак не виключено, що в з'ябрах плітки із цього озера в результаті впливу токсикантів пригнічуються аеробні процеси, внаслідок чого генерується недостатня кількість енергії для забезпечення процесів ізоляції та детоксикації [4].

У м'язах окуня з оз. Кирилівське зафіксовано в 1,88 раза нижчу активність СДГ весною порівняно рибами із оз. Бабиного (рис. 5.6). Однак у літній та весняний періоди навпаки інтенсивність аеробних процесів була вищою в особин із забрудненого озера. Якщо весняні результати можна пояснити виснаженістю риб в післязимовий період та проходженням нересту, то влітку та восени подібна інтенсифікація може бути викликана значною потребою в енергетичних ресурсах для забезпечення процесів детоксикації.

Щодо плітки, то вірогідну різницю було зафіксовано зменшення активності СДГ в 2,25 раза у риб з оз. Кирилівського порівняно з особинами з контрольного озера в літній період. В цьому випадку система аеробного дихання може інгібуватися токсикантами, що знаходяться у водоймі та

ускладнюють механізми генерування енергії [9, 37]. Також не виключено своєрідність метаболізму плітки за токсичних умов внаслідок багаторічного пристосування.

Отже, функціонування гліколізу та циклу трикарбонових кислот у тканинах риб з обох дослідних озер великою мірою залежить від сили антропогенного впливу, а також йому властива чітка сезонна залежність.

АТФ-азна активність тканин є не менш важливим критерієм при дослідженні енергетичного обміну тканин риб в умовах антропогенного забруднення водойм. Більшою мірою це стосується зябер, оскільки цей орган безпосередньо контактує з водним середовищем [226]. Токсиканти здатні проникати в клітинну мембрану, змінювати плинність мембран, а разом з цим впливати на функціональний стан ліпопротеїдних комплексів, насамперед АТФ-залежних транспортних систем [226, 227]. Також подібну дію можуть чинити йони важких металів, вміст яких високий у дослідній водоймі.

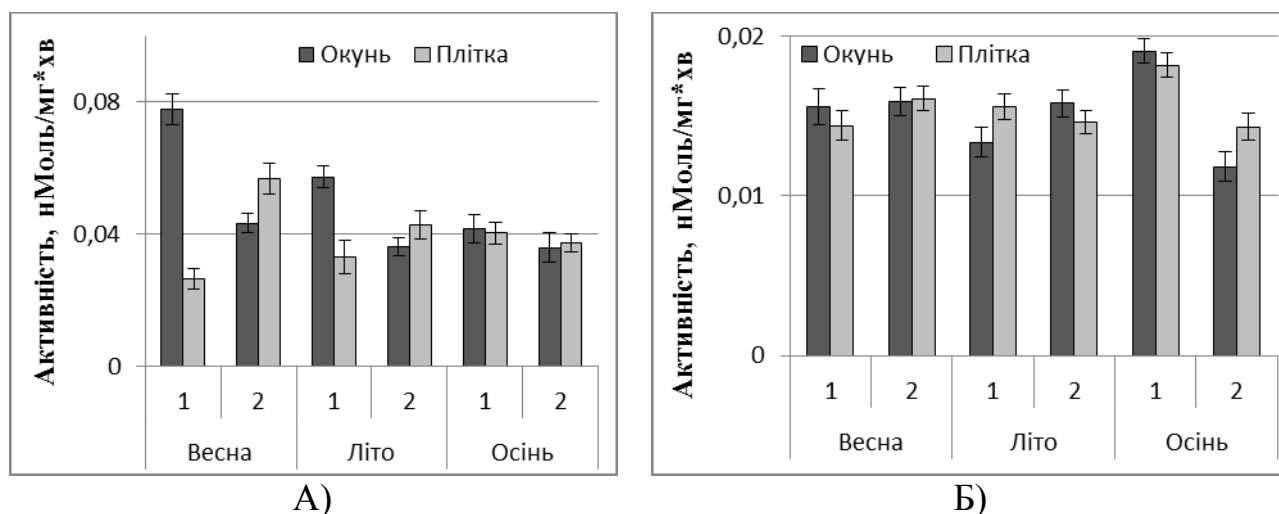


Рис. 5.7. АТФ-азна активність в зябрах (А) та м'язах (Б) риб за дії антропогенного порушення водних екосистем, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2 – оз. Бабине

АТФ-азна активність у тканинах риб у багатьох випадках корелює із активністю СДГ, проте все ж зафіксовано низка відмінностей. Так, активність цього ферменту в зябрах окуня з оз. Кирилівське у весняний, літній та осінній періоди була вищою в 1,79, 1,58 та 1,17 раза відповідно щодо цього виду з оз.

Бабиного (рис. 5.7). При цьому, якщо порівнювати сезонну динаміку, то цей показник у зябрах окуня з оз. Кирилівського знижувався з весни до осені. Це може свідчити про активне проходження обмінних процесів у респіраторному апараті окуня з забрудненого озера. Також цю реакцію можна вважати захисним механізмом протидії підвищеній концентрації токсинів у воді, в тому числі і йонів важких металів. Очевидно у зябрових пелюстках за несприятливих умов активно відбувається гідроліз АТФ. Енергія, яка виділяється при цьому, використовується на підтримання йонного балансу.

У плітки з оз. Кирилівське зафіксовано нижчу АТФ-азну активність у зябрах в 2,15 та 1,31 раза відповідно у весняний та літній періоди щодо риб з оз. Бабине (рис. 5.7). Отримані зміни можуть свідчити про низьку інтенсивність обмінних процесів у зябрах з забрудненого озера у ці періоди. Не виключено, що причиною цього може бути зміна проникності мембран клітин внаслідок токсичної дії водного середовища. При цьому інгібується АТФ-залежна транспортна система мембран клітин зябер [101, 105]. При зниженні активності цього ферменту в зябрах плітки ускладнюються процеси транспортування йонів калію в клітини, а натрію із неї.

У м'язах риб з обох озер сезонна динаміка АТФ-азної активності виражена не чітко. Але восени встановлено підвищення АТФ-азної активності в 1,72 та 1,28 раза відповідно у м'язах окуня та плітки з оз. Кирилівське щодо риб із контрольного озера (рис. 5.7). Це є свідченням активного функціонування натрій-калієвої помпи мембран м'язових клітин [202]. Ці зміни можуть бути пов'язані з детоксикацією із тканин риб токсичних речовин, процеси яких відбуваються із затратою значної кількості енергії. У такий спосіб риби можуть витримувати періоди посиленого антропогенного навантаження та зберігати нормальну життєдіяльність.

Найбільш доцільно досліджувати стан енергетичного обміну в тканинах риб, а саме функціонування дихального ланцюга мітохондрій за активністю цитохромоксидази. Цей фермент знаходиться в міцному взаємозв'язку з СДГ.

У зябрах окуня з оз. Кирилівське зафіксовано нижчу активність ЦО в 1,68 та 1,43 раза відповідно у літній та осінній періоди порівняно із особинами з контрольного озера (рис. 5.8). Очевидно, що відбувається пригнічення активності ферментних систем, які забезпечують окиснення субстратів і транспорт електронів дихальним ланцюгом мітохондрій, яке призводить зниження генерування енергії та використання її клітинами. За гідрохімічним режимом обох озер варто припустити, що інгібуючий ефект на енергозабезпечення тканин риб з оз. Кирилівське спричинений токсикантами різної хімічної природи, які постійно надходять в це озеро.

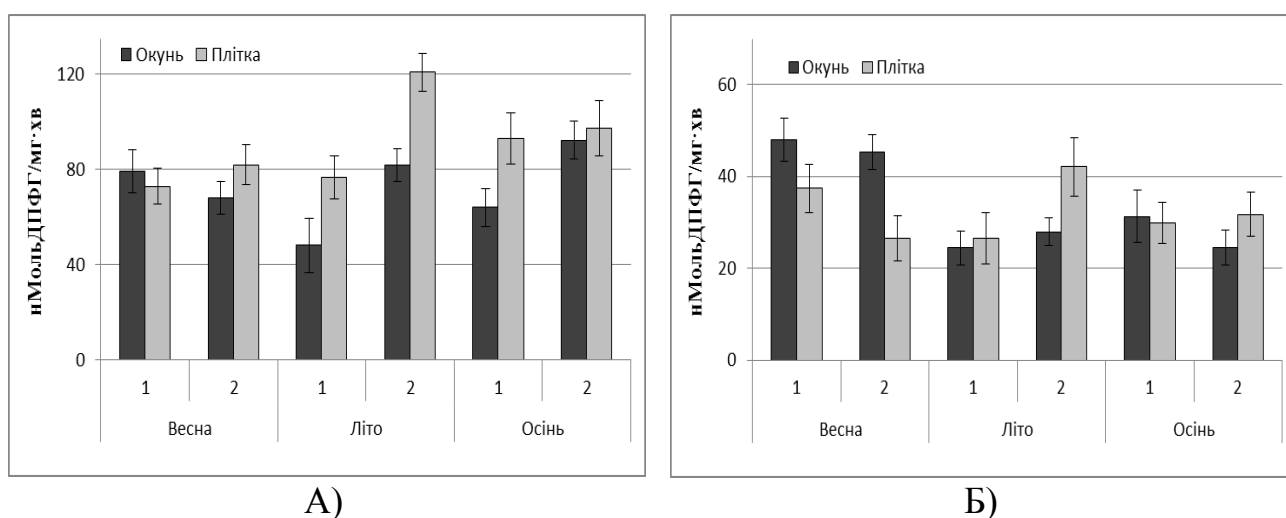


Рис. 5.8. Активність цитохромоксидази в зябрах А) та м'язах Б) риб, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2 – оз. Бабіне.

У зябрах плітки з оз. Кирилівське в літній період також відмічено нижчу в 1,59 раза активність ЦО, ніж у риб виду з оз. Бабіне (рис. 5.8). За отриманими даними варто припустити, що підвищення температури води в літній період в забрудненому підвищується негативний ефект токсикантів. Також ці зміни повністю корелюють із активністю СДГ, що є ще одним підтвердженням ускладненого функціонування циклу трикарбонових кислот та дихального ланцюга мітохондрій у зябрах риб з оз. Кирилівського [15].

У м'язах риб ситуація неоднозначна. Весною зафіксовано вищу в 1,43 раза активність ЦО в м'язах плітки з оз. Кирилівське порівняно із контрольним озером. Це є проявом активації обмінних процесів у м'язах плітки в

переднерестовий період [9]. Також, після зимівлі риби дещо виснажені, тому більш вразливі до дії токсикантів водного середовища. Тому організм плітки через посилення енергогенеруючих аеробних процесів може краще протидіяти несприятливим чинникам.

Влітку встановлено протилежні закономірності, а саме вищу активність ЦО в зябрах плітки з оз. Бабіне в 1,61 раза щодо риб з оз. Кирилівське. Цей період характеризується стрімким підвищенням середньодобової температури води в озері, що впливає на процеси енергетичного обміну в риб та підсилює негативну дію токсикантів. В м'язах окуня істотних змін за активністю ферменту не виявлено.

Отже, за змінами активності ферментів енергетичного та йонного обміну можна дійти висновку, що інтенсивність процесів енергозабезпечення тканин риб в дослідних озерах протікає з різною інтенсивністю. Чітко простежується сезонна залежність цих процесів. Значна кількість токсикантів, які надходять в оз. Кирилівське, спричиняють зміни у метаболічних процесах риб та викликають формування компенсаторних механізмів щодо дії несприятливих чинників. Це проявляється в активації альтернативних шляхів генерування енергії у тканинах риб. Вірогідно, що за багато років перебування риб відбулися такі зміни у метаболічних процесах, які дозволяють їм максимально адаптуватися до несприятливих умов.

5.5. Вміст та співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах риб за дії антропогенного забруднення водойм.

Для реалізації різних енергозалежних функцій будь-якому організму необхідно стабілізувати процеси енергетичного обміну як основу їх життєдіяльності [5]. Окрім ферментативної активності, стан енергетичного обміну в клітині оцінюють за вмістом аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), а також шляхом розрахунку чисельних біоенергетичних індексів.

В результаті досліджень встановлено, що рівновага аденілатного пулу в тканинах риb із забрудненого озера зміщується переважно в бік підвищення частки низькоенергетичних фосфатів у різні сезони року. Так, у м'язах окуня із оз. Кирилівське у літній період зафіксовано менший вміст АТФ в 1,61 та 1,16 раза, ніж весною та осінню (рис. 5.9). Також відмічено незначне зниження вмісту АДФ в осінній період порівняно з іншими сезонами. При цьому вміст АМФ залишався на одному рівні. В м'язах окуня із контрольного озера також зафіксовано нижчий в 1,54 раза вміст АТФ в осінній період, порівняно з весняним. При цьому вміст АДФ також вірогідно ($P \leq 0,05$) знижувався у напрямку весна $\rightarrow$ осінь, а АМФ незначно зростав. Це спричинило зменшення різниці між низькоенергетичними фосфатами, що може вказувати на інтенсивне дефосфорилювання АТФ у м'язах окуня з оз. Бабине.

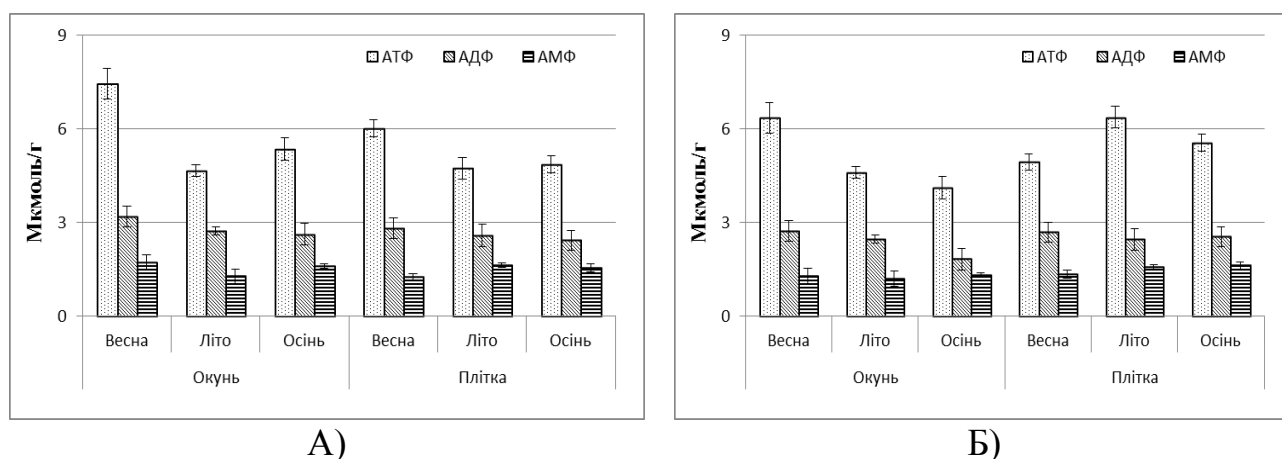


Рис. 5.9. Сезонна динаміка вмісту аденілових нуклеотидів в м'язах риb із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

Отримані дані підтверджують закономірності, які встановлені вищеописаними дослідженнями ферментативної активності м'язів окуня в озерах. Однак все ж зафіксовано низу відмінностей. Підвищення активності СДГ у м'язах окуня з оз. Кирилівське поряд із зниженням концентрації аденілатів у цей період вказує на активне використання нуклеотидів на процеси енергозабезпечення. Іншими словами, енергозатратні процеси дещо домінують над енергогенеруючими, що може бути пов'язано з екологічними умовами цього озера [9, 131].

За величинами аденілатного пулу в м'язах окуня також варто відмітити, що в осінній період вміст АТФ дещо зростає, порівняно з літом, та збільшується різниця між цим макроергом та АДФ, що свідчить про незначний ресинтез АТФ. Відповідний адаптивний механізм підтримує енергетику тканин на достатньому рівні та попереджає розвиток гіпоенергетичного стану м'язів [11].

У м'язах окуня з контрольного озера зниження вмісту АТФ восени можна розглядати як сповільнення метаболічних реакцій у передзимовий період. Також в оз. Бабіне наявна дещо менша кормова база для окуня, ніж в другому озері, що також безпосередньо відображається на енергетиці організму.

У м'язах плітки з оз. Кирилівське зміни аденілатного пулу аналогічні до м'язів окуня. Варто лише відмітити менш інтенсивне зниження вмісту АТФ (рис. 5.9). У м'язах плітки з контрольного озера вірогідно ($P \leq 0,05$) найвищий вміст АТФ зафіксовано в літній період. При цьому восени незначно зростає вміст АМФ. Очевидно у м'язах риб з контрольного озера процеси, які супроводжуються генеруванням енергії протікають інтенсивніше, ніж у риб з забрудненої водойми. Що цікаво, цю закономірність відмічена у всі сезони року.

Не зважаючи на різну інтенсивність енергогенеруючих процесів у м'язах окуня з обох озер, суттєвої різниці у співвідношенні аденілатів не зафіксовано. Проте у м'язах плітки незначну реорганізацію у співвідношенні основних компонентів аденілатного пулу все ж встановлено. Найбільш чітко зазначені зміни спостерігаються влітку, а саме співвідношення АТФ:АДФ:АМФ у м'язах плітки з оз. Кирилівське становило 53%:29%:18% проти 61%:24%:15% у контрольному озері (рис. 5.10).

Варто відмітити, що в м'язах плітки з контрольного озера частка високоенергетичного фосфату (АТФ) вища, а АДФ та АМФ нижча порівняно з оз. Кирилівське. Це дає змогу стверджувати, що в цей період у м'язах плітки з оз. Бабіне активно функціонують аеробні шляхи генерування енергії, оскільки відмічено активне окиснювальне фосфорилування.

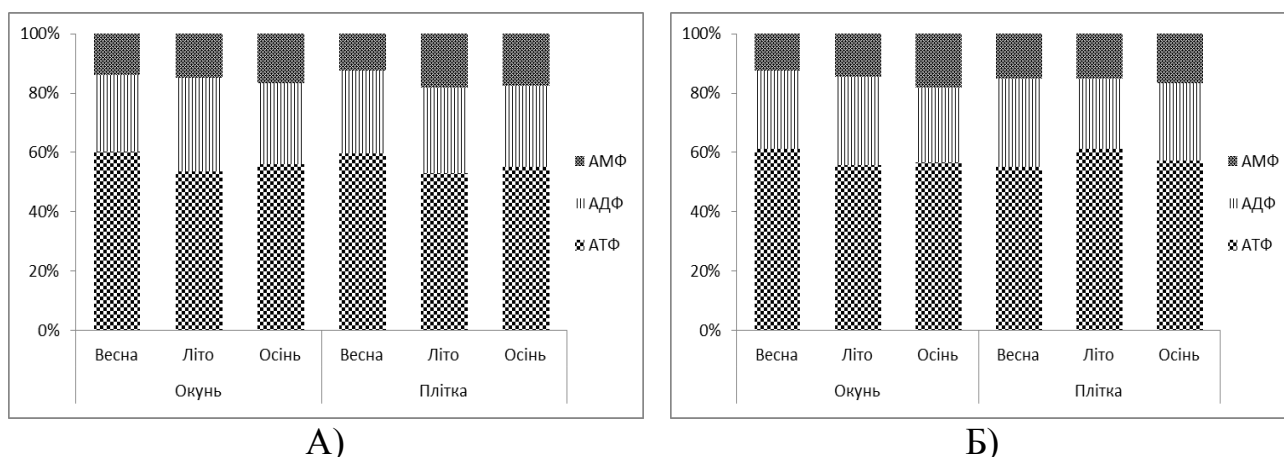


Рис. 5.10. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у м'язах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У плітки з оз. Кирилівське зафіксовано збільшення частки низькоенергетичних фосфатів, що вказує на функціонування в її організмі малоефективного субстратного фосфорилування та, можливо, одночасного дефосфорилування АТФ [12]. В будь-якому випадку з отриманих результатів видно, що в оз. Кирилівське плітка активно залучає енергетичні ресурси на процеси детоксикації забруднювачів. Подібні механізми можна також розглядати як результати багаторічної адаптації риб до різкого коливання надходження токсичних сполук в зазначену водойму.

Реакції енергетичного обміну в зябрах риб більш чутливі до зміни гідрохімічних та токсикологічних чинників та сезонних коливань абіотичних чинників. Так, у зябрах окуня з оз. Кирилівське зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження вмісту АТФ та підвищення вмісту АМФ в осінній період у 1,21 та 1,34 раза відповідно порівняно з весною (рис. 5.11). При цьому різниця між АДФ та АМФ дуже мала. Очевидно, в респіраторному апараті окуня із цього озера в літній та осінній періоди провідним шляхом генерування енергії є гліколіз, що підтверджується також відповідною активністю ферментів енергетичного обміну. Не виключено, що надмірне антропогенне забруднення озера разом із підвищеною температурою води викликає у окуня активацію процесу гідролізу АТФ для забезпечення нормальної життєдіяльності. Збільшення частки АМФ також свідчить про потребу в ресинтезі АТФ, що в

цьому випадку відбувається, очевидно, за рахунок субстратного фосфорилування [10].

В контрольному озері ситуація дещо інша. Зафіксовано підвищення вмісту АТФ та АДФ у зябрах окуня з оз. Бабине в осінній період порівняно з весняним у 1,31 та 1,25 раза відповідно (рис. 5.11). При цьому вміст АМФ практично не змінювався. Очевидно, що в літній та осінній періоди в зябрах окуня з контрольного озера активно функціонує цикл трикарбонових кислот та дихальний ланцюг мітохондрій. Варто відмітити, що один і той самий вид риб із двох різнотипних за гідрологічним та гідрохімічним режимами водойм у різні пори року відмінним чином регулює реакції енергозабезпечення тканин свого організму.

В забрудненому озері метаболізм окуня спрямований на активне залучення енергетичних ресурсів на протидію проникненню токсичних речовин в його організм, або ж їх детоксикації. У риб з оз. Бабине рівновага в співвідношенні енергогенеруючих та енергозатратних процесів зберігається протягом всіх дослідних сезонів.

У зябрах плітки з оз. Кирилівське встановлено вірогідне ($P \leq 0,05$) підвищення вмісту всіх аденілатів восени. Однак найбільшою мірою зріс вміст АМФ – в 1,53 раза порівняно з весняним періодом (рис. 5.11), що спричинило зменшення співвідношення АДФ/АМФ.

Очевидно, в зябрах цього виду активуються аеробні процеси, що підтверджується також підвищеною активністю СДГ та ЦО. Причиною підвищення вмісту АМФ поряд із АТФ та АДФ вірогідно може бути домінування його синтезу із відповідних попередників над процесами дефосфорилування АДФ [5]. За таких умов збільшується загальний аденілатний пул, що позитивно відображається на біоенергетичному стані організму плітки. Отже, цей вид компенсує дію токсикантів на свій організм шляхом активування енергогенеруючих процесів метаболізму.

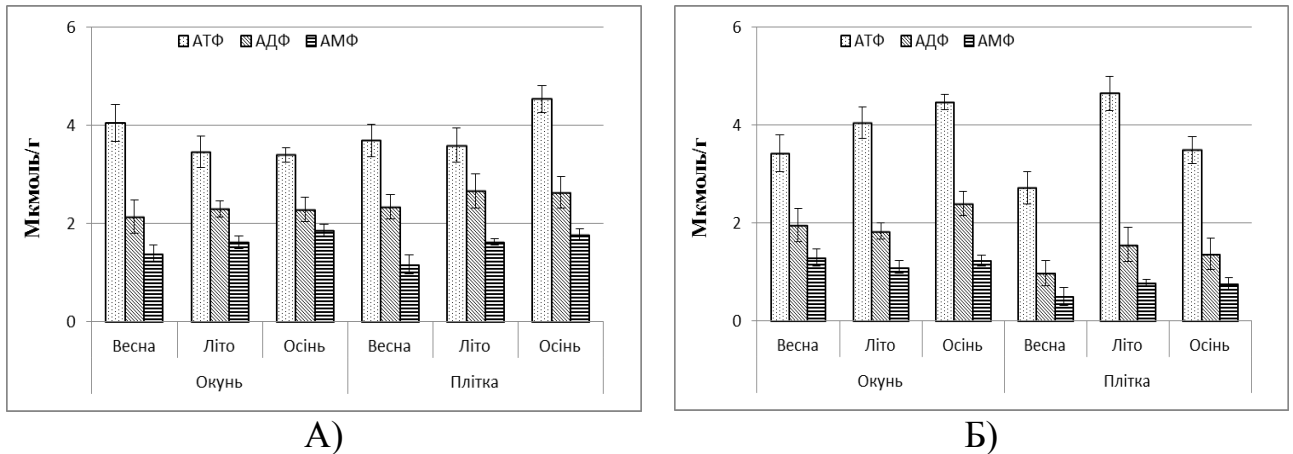


Рис. 5.11. Сезонна динаміка вмісту аденілових нуклеотидів у зябрах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У зябрах плітки з оз. Бабине мінімальний вміст АТФ, АДФ та АМФ було зафіксовано весною, який нижче у 1,71, 158 та 1,57 раза відповідно порівняно з літом. Це свідчить про деяке виснаження організму риб у післязимовий період та під час нересту.

Співвідношення макроергів у зябрах риб залежить від сезону року. У зябрах окуня з оз. Кирилівське співвідношення аденілатів (АТФ:АДФ:АМФ) у весняний період становило 54:28:18 проти 45:30:25 восени (рис. 5.12). Очевидно, з весни до осені спостерігається тенденція до зниження частки АТФ та підвищення АМФ. Це може бути наслідком активного включення високоенергетичного фосфату в процеси адаптації та детоксикації. Також це є прямим свідченням переважання в зябрах окуня енергозатратних процесів над енергогенеруючими.

У зябрах окуня з оз. Бабине встановлено обернену реорганізацію аденілатного пулу. Так, у весняний період співвідношення АТФ:АДФ:АМФ становило 51:30:19, тоді як влітку – 58:26:16. Таким чином, в літній та осінній періоди спостерігається тенденція до зниження частки АМФ та підвищення АТФ порівняно з весною. Біоенергетичний стан зябер окуня весною може бути наслідком післязимового періоду.

Порівнюючи результати, отримані з обох озер, можна чітко помітити їх антибатний характер. Співвідношення аденілових нуклеотидів, як і інші

досліджені критерії дозволяють стверджувати, що в окуня з оз. Кирилівське з весни до осені енергозатратні процеси переважають над енергогенеруючими. Враховуючи несприятливі гідрохімічні та токсикологічні умови оз. Кирилівське варто вважати однією із провідних причин зазначених змін енергетичного стану тканин риб вплив антропогенного порушення водойми. Практично всі досліджені критерії вказують на те, що риби з забрудненого озера постійно знаходяться в енергетично напруженому стані, що проявляється в активації чисельних альтернативних компенсаторних механізмів енергозабезпечення [17, 63].

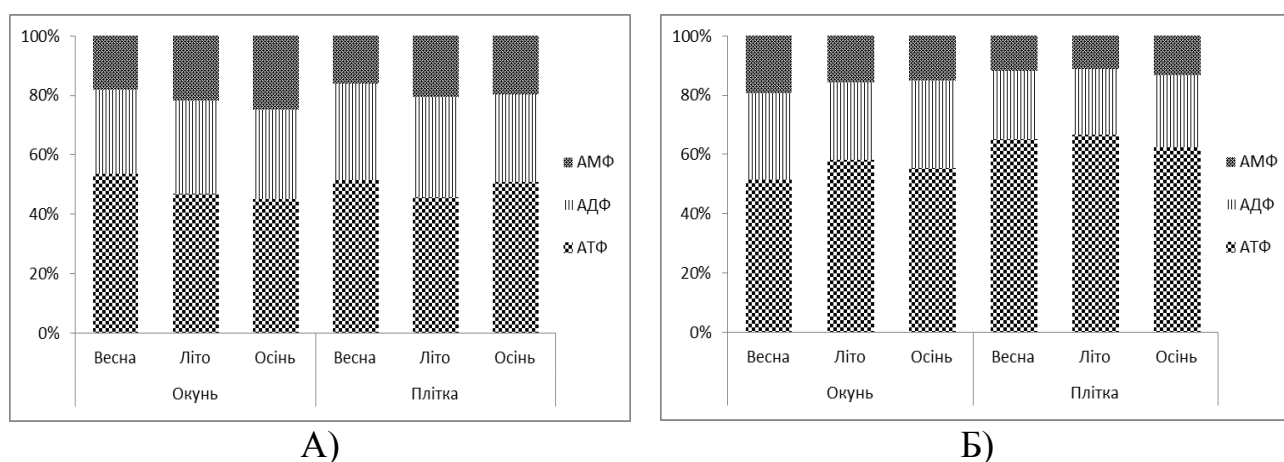


Рис. 5.12. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у зябрах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабіне (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У зябрах плітки з оз. Кирилівське протягом усіх сезонів частка АМФ була вищою, ніж у риб з оз. Бабіне. Найбільш чітко це зафіксовано в літній період, коли співвідношення АТФ:АДФ:АМФ у зябрах плітки з оз. Кирилівське було 46:34:20 відповідно проти 67:22:11 у риб з оз. Бабіне (рис. 5.12). Переважання високоенергетичного фосфату в зябрах плітки з контрольного озера свідчить про кращу енергозабезпеченість респіраторного апарату порівняно із забрудненим озером. Це є черговим підтвердженням переважання енергозатратних процесів над енергогенеруючими та інтенсивного дефосфорилювання АТФ в зябрах плітки з оз. Кирилівське, однією з причин чого може бути дія токсикантів.

Печінка риб не менш чутлива до дії абіотичних та антропогенних чинників, ніж інші органи. Так, в печінці окуня з оз. Кирилівське в осінній період зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) підвищення вмісту АМФ в 1,48 раза порівняно з весною та незначна тенденція зниження вмісту АТФ (рис. 5.13). У риба з оз. Бабіне встановлено також незначні зміни в осінній період, а саме зниження концентрації АДФ в 1,46 раза порівняно з весняною величиною. Варто відмітити, що практично у всіх тканинах окуня з оз. Кирилівське з весни до осені активуються катаболічні реакції, що може бути результатом дії токсикантів антропогенного походження.

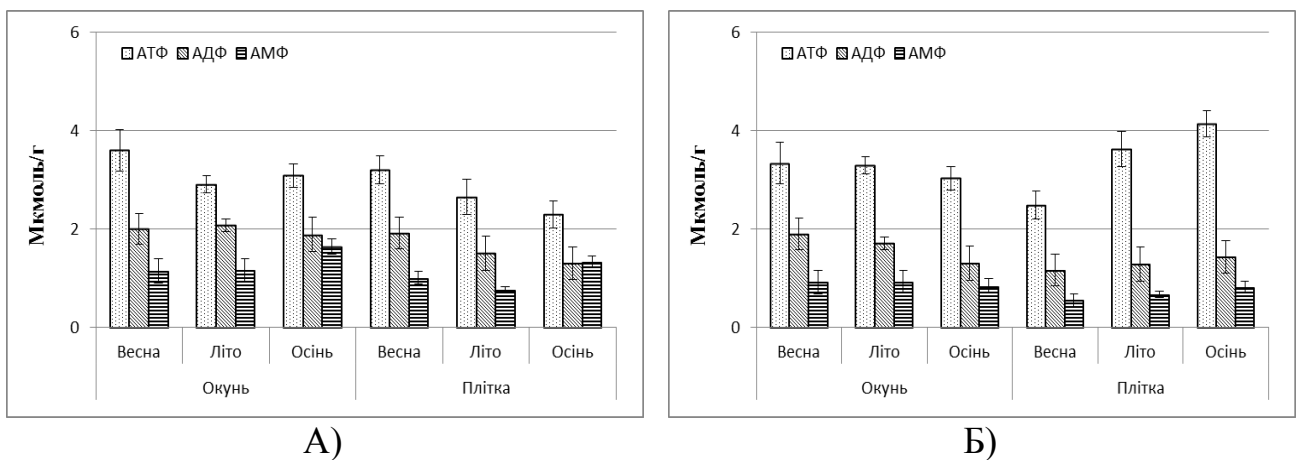


Рис. 5.13. Сезонна динаміка вмісту аденілових нуклеотидів у печінці риба із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабіне (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

Однак відповідне систематичне накопичення АМФ несе за собою низку наслідків, зокрема відбувається накопичення вихідного субстрату для подальшого фосфорилювання, що може відбуватися як в аеробних, так і в анаеробних умовах [7]. Також отримані результати дозволяють стверджувати, що своєрідні умови водойми в комплексі з перемінною абіотичною складовою змушують риба корегувати реакції енергетичного обміну з домінуванням енергозатратних процесів.

Стан енергетичного обміну у плітки за відповідними показниками у печінці був зовсім іншим. У риба з забрудненого озера восени зафіксовано зниження вмісту АТФ і АДФ та підвищення АМФ в 1,45, 148 та 1,32 раза відповідно порівняно з весняними величинами (рис. 5.13). При цьому, вміст

АДФ та АМФ восени практично зрівнялись, що вказує на активний гідроліз АДФ. Поряд із цим, зниження концентрації АТФ є результатом недостатнього його утворення, оскільки вміст АДФ також пропорційно знижується. Очевидно, в осінній період енергозабезпечення печінки плітки з оз. Кирилівське носить заощаджувальний характер, що може бути наслідком активації енергозатратних процесів детоксикації та ізоляції організму від токсичного забруднення [54].

У плітки з контрольного озера восени величина всіх досліджених показників вірогідно зростала, а саме зафіксовано вищий вміст АТФ, АДФ та АМФ у 1,72, 1,29 та 1,50 раза відповідно порівняно з весною. Очевидно після зимового періоду в наступні сезони риби активно відновлюють енергетичні запаси тканин, зокрема накопиченням високоенергетичного фосфату.

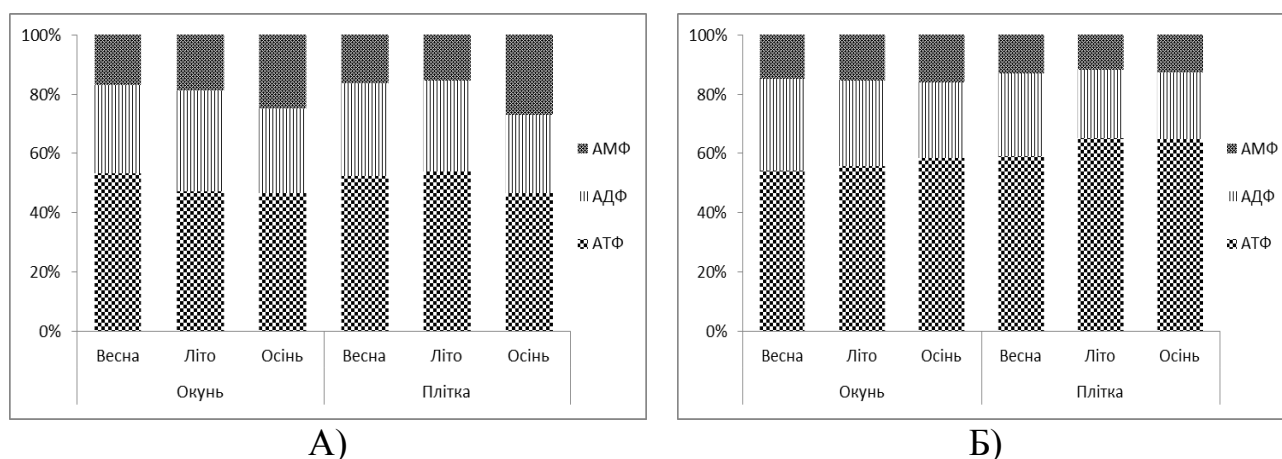


Рис. 5.14. Співвідношення аденілових нуклеотидів (АТФ:АДФ:АМФ) у печінці риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

Співвідношення аденілатів у печінці риб також характеризується сезоннозалежною динамікою.

В окуня та плітки з забрудненого озера в осінній період зафіксовано співвідношення АТФ:АДФ:АМФ на рівні 47:28:25 та 46:27:27 відповідно проти 53:30:17 та 52:32:16 весною (рис. 5.14). Це вказує на те, що досліджені види риб подібним чином реагують восени на екологічну ситуацію оз. Кирилівське. Отримані дані вказують на посилене накопичення низькоенергетичного фосфату у печінці риб за рахунок поступового гідролізу АТФ та АДФ. Також

це є свідченням активації катаболічної гілки метаболізму, яка супроводжується використанням великої кількості енергії [125, 133]. Подібний механізм можна розглядати як компенсаторну реакцію риб на хронічну дію несприятливого чинника, а саме надмірного антропогенного забруднення водойми.

У контрольному озері відмічені закономірності не зафіксовані, що вказує на збалансованість процесів енергозабезпечення у тканинах риб з цієї водойми.

Якщо розглядати сумарний вміст аденілатів АТФ+АДФ+АМФ у тканинах риб із досліджених водойм у сезонному аспекті, то також можна відмітити низку закономірностей.

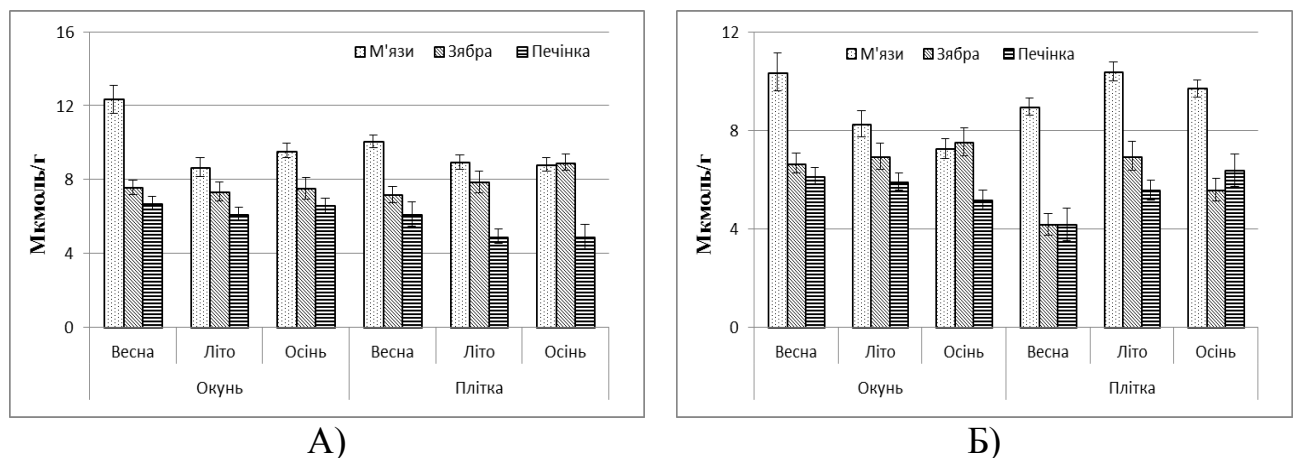


Рис. 5.15. Сумарний вміст (АТФ+АДФ+АМФ) аденілових нуклеотидів у тканинах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У м'язах окуня та плітки з оз. Кирилівське сума аденілатів у літній та осінній періоди вірогідно ($P \leq 0,05$) менша порівняно з весною (рис. 5.15). Це переважно пов'язано із зменшенням вмісту АТФ в м'язах риб у ці періоди, коли аденілатний пул представлений високою часткою АМФ. Варто відмітити поступове накопичення суми аденілових нуклеотидів у зябрах плітки з оз. Кирилівське та вірогідне зниження величини цього показника у її печінці з весни до осені. Перерозподіл аденілатного пулу у тканинах плітки вказує на те, що в її зябрах адаптаційні процеси до зовнішнього середовища відбуваються через активацію енергогенеруючих процесів, тоді як в м'язах енергетичні ресурси активно витрачаються.

В окуня з контрольного озера за сумою аденілатів у тканинах сезонна динаміка схожа до риб з забрудненого озера, однак пул нуклеотидів був представлений у співвідношенні із переважанням АТФ. Плітка ж з оз. Бабине до осені накопичує аденілати у всіх досліджених тканинах.

Дослідження динаміки біоенергетичних індексів у різні сезони дає можливість зрозуміти спрямованість процесів енергетичного обміну в тканинах риб.

У тканинах окуня з оз. Кирилівське з весни до осені встановлено вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження величини ЕЗ (рис. 5.16). Переважна причина цього є підвищення вмісту АМФ та зниження АТФ і АМФ у тканинах риб. Це підтверджує вищеописані результати та вказує на активне функціонування катаболічних реакцій у тканинах окуня у водоймі з досить високим рівнем антропогенного забруднення.

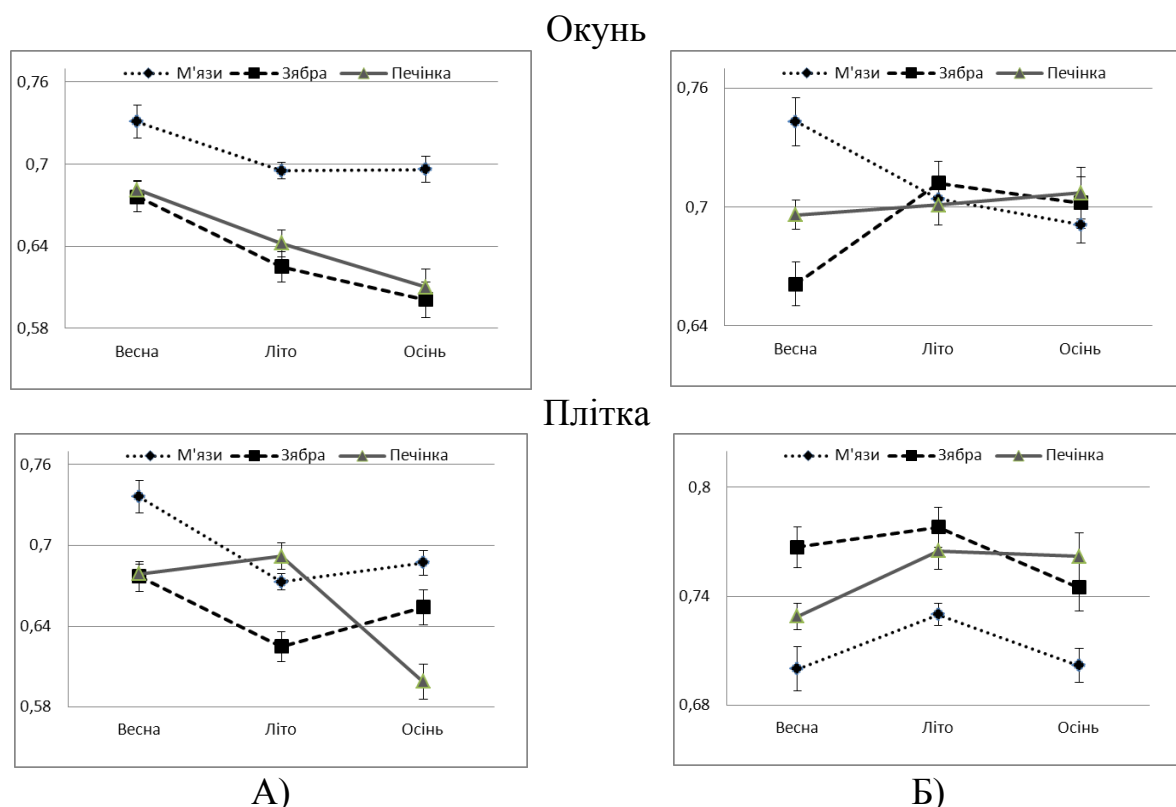


Рис. 5.16. Динаміка аденілатного енергетичного заряду (ЕЗ) у тканинах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У тканинах окуня з контрольного озера варто відмітити незначні зміни ЕЗ у м'язах та зябрах. Ферментні системи метаболізму аденіннуклеотидів у

тканинах окуня з оз. Бабине функціонують стабільніше, ніж з оз. Кирилівське, про що свідчить рівень ЕЗ. У печінці окуня з оз. Бабине величина ЕЗ у різні сезони року не змінювалась, що вказує на стабільне енергозабезпечення клітин цього органа.

У м'язах та зябрах плітки з оз. Кирилівське влітку зафіксовано вірогідне ($P \leq 0,05$) зниження ЕЗ у м'язах та зябрах порівняно з весною (рис. 5.16). Це підтверджує той факт, що в цей період аденілатний пул досліджених тканин представлений переважно низькоенергетичними фосфатами. Як зазначалось вище, причиною цього може бути активація дефосфорилювання АТФ та АДФ внаслідок впливу антропогенного забруднення водойми. У печінці плітки найнижчий рівень ЕЗ було зафіксовано восени. Чутливість цього органу може пояснюватись тим, що велика кількість токсикантів із води попадає в організм риби через травну систему [9, 35]. Саме печінка приймає участь у процесах детоксикації шкідливих речовин. Очевидно на це витрачається значна кількість енергії, що пояснює відповідну величину ЕЗ.

У тканинах плітки з контрольного озера суттєвих змін ЕЗ у різні сезону року не зафіксовано.

Індекс фосфорилювання не менш важливий критерій для оцінки впливу антропогенного забруднення водойм на біоенергетичний стан організму риби. У м'язах окуня з забрудненого озера відмічено зниження величини ІФ у літній період 1,36 раза порівняно з весною (рис. 5.17). У м'язах та печінці цей критерій також вірогідно знижувався. Очевидно, органи окуня влітку характеризуються пригніченням фосфорилювання низькоенергетичних фосфатів. Виходячи із співвідношення аденіннуклеотидів, то в цьому випадку зафіксовано активний гідроліз аденілатів із макроергічними зв'язками. В результаті накопичується АМФ. Встановлені зміни варто розглядати як метаболічні реакції окуня на екологічний стан оз. Кирилівське влітку, враховуючи те, що з підвищенням температури води підсилюється токсичний ефект забруднення.

мірою впливають на процеси фосфорилування у тканинах цього виду, ніж в окуня. Не виключено, що впродовж тривалого часу перебування в подібних умовах у плітки сформувались ефективні адаптивні механізми протидії забрудненому середовищу [9].

У тканинах плітки з оз. Бабине відмічено вірогідне ($P \leq 0,05$) більша величина ІФ влітку порівняно з весною та осінню (рис. 5.17). Це вказує на активне генерування АТФ за рахунок фосфорилування АДФ та АМФ. Отримані результати цілком протилежні до риб з забрудненого озера, та свідчать про те, що плітка з оз. Бабине влітку почуває себе комфортніше. Величина ЕЗ та ферментативна активність у її тканинах також це підтверджують.

Величина коефіцієнта порівняння у тканинах риб із досліджених озер дає можливість глибше зрозуміти співвідношення прямої і зворотної реакції перетворення АДФ.

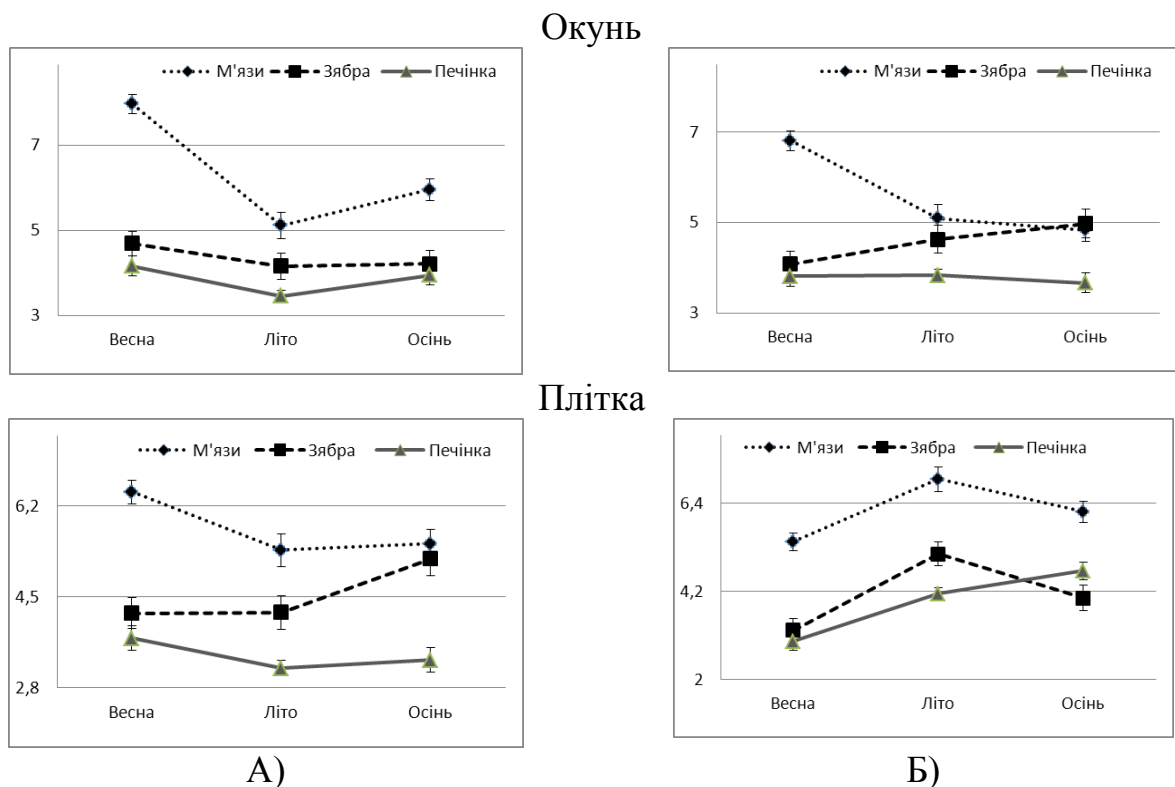


Рис. 5.18. Динаміка коефіцієнта порівняння (КП) у тканинах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У м'язах окуня з оз. Кирилівське найнижчий рівень КП було зафіксовано влітку, а саме – 5,11, що в 1,56 раза менше, ніж весною (рис. 5.18). В інших тканинах суттєвих змін нами не відмічено. Оскільки вміст АДФ в м'язах окуня влітку також знижувався, то варто припустити, що має місце пригнічення прямої реакції її фосфорилування. Підтвердженням цього також є зниження рівня АТФ, що свідчить також про пригнічення його ресинтезу [10]. В інших органах співвідношення прямої та зворотної реакції перетворення АДФ не змінювалось.

Отримані результати є свідченням низької інтенсивності енергогенеруючих процесів у м'язах окуня, що компенсується за рахунок активації анаеробних шляхів генерування енергії. Проте відповідна адаптивна реакція дозволяє організму окуня нормально функціонувати в умовах надмірного антропогенного забруднення озера. В окуня з оз. Бабіне лише у м'язах зафіксовано незначне зниження КП з весни до осені (рис. 5.18). Однак діапазон змін набагато вужчий, ніж в окуня з оз. Кирилівське, що дозволяє ними знехтувати.

Величина КП у тканинах плітки з оз. Кирилівське також характеризується вузькою динамікою в різні сезони року. Очевидно, процеси фосфорилування та дефосфорилування у тканинах риб в різні пори року взаємокомпенсуються. Величина ІФ у тканинах плітки з оз. Бабіне свідчить про найбільш інтенсивне фосфорилування АДФ у літній період.

Встановлено також кількісне співвідношення АТФ/АДФ, яке характеризує енергетичний потенціал тканин.

У тканинах окуня з оз. Кирилівське найменшу величину цього критерію було зафіксовано влітку (рис. 5.19). Вірогідне зниження величини ЕП вказує на підвищення концентрації АДФ в тканинах окуня та свідчить про необхідність додаткового енергозабезпечення його організму. Виходячи із співвідношення компонентів аденілатного пулу та їх вмісту, енергозабезпечення тканин окуня відбувалось, більшої мірою, за рахунок субстратного (гліколітичного) фосфорилування [12]. В окуня з оз. Бабіне зміни ЕП корелюють із динамікою

ІФ та вказують на перерозподіл енергогенеруючих та енергозатратних процесів між тканинами його організму, що виражається у взаємокомпенсації енергетичних потреб.

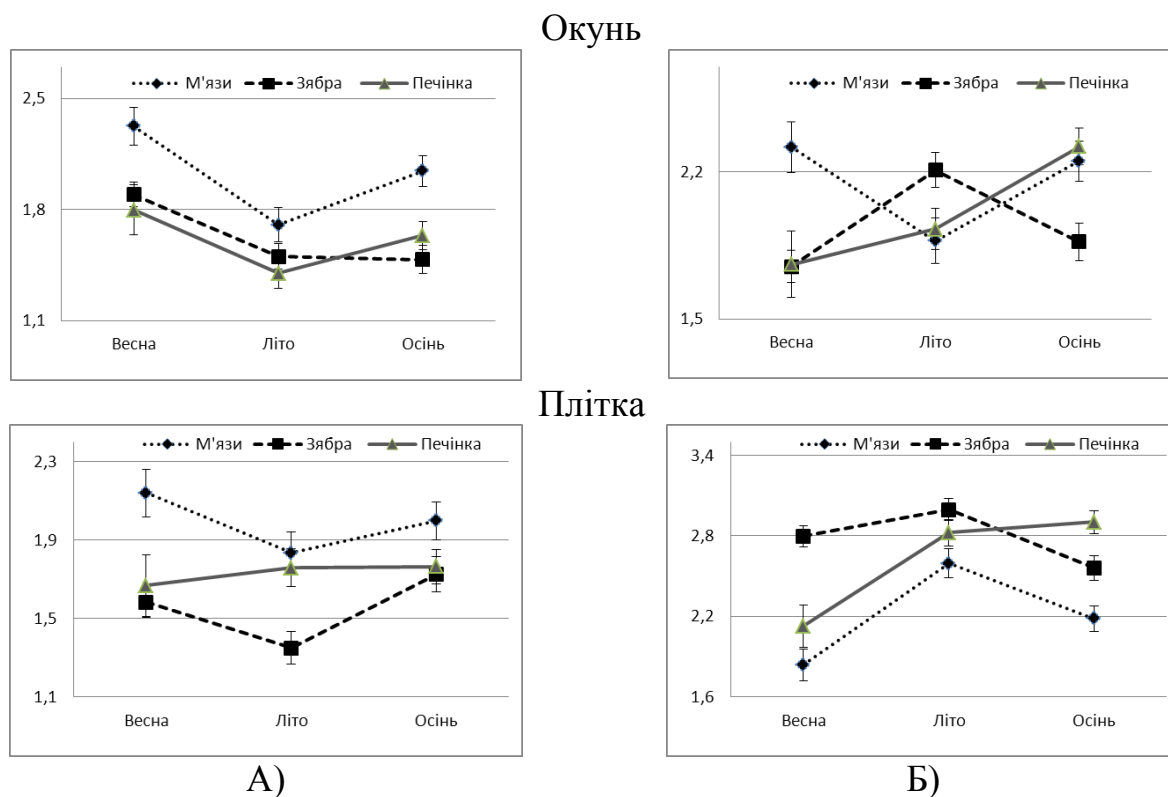


Рис. 5.19. Динаміка енергетичного потенціалу (ЕП) тканин риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

У тканинах плітки з обох озер величини ЕП у тканинах, носять обернений характер. Метаболізм аденілатів риб з оз. Кирилівське характеризується домінуванням енергозатратних процесів, на що вказує підвищення рівня АДФ та пов'язане з цим зниження ЕП. Знову ж таки, зазначені зміни можуть бути спричинені затратою великої кількості енергії влітку на протидію надходженню токсичних речовин. У тканинах же плітки з оз. Бабине активно функціонують процеси генерування енергії та судячи із співвідношення аденілатів, більшою мірою це забезпечується окиснювальним фосфорилуванням.

Інтенсивність тканинного дихання та процесів фосфорилування варто оцінювати за величиною термодинамічного контролю дихання. Щодо окуня з забрудненого озера, то значне зниження величини ТДК в 1,52 раза було зафіксовано в його печінці восени порівняно з весною (рис. 5.20). Це вказує на

значне накопичення АМФ в його печінці у цей період. Очевидно це є свідченням активного гідролізу АТФ та АДФ. Енергія, яка при цьому виділяється, вірогідно використовується на забезпечення нормального функціонування організму в ускладнених умовах існування. Не виключено, що цей механізм є сформованим протягом тривалого часу перебування риб в несприятливих умовах.

Цікаво, що в окуня з оз. Бабине реакція була подібною, проте найменшу величину ТДК в 1,53 раза було зафіксовано в його м'язах восени порівняно з весною (рис. 5.20). В зябрах величина критерію взагалі зростала восени. Цю реакцію варто розглядати як видоспецифічну, однак не відкидаючи той факт, що вона великою мірою регулюється гідрохімічним режимом озера та кліматичними умовами [225].

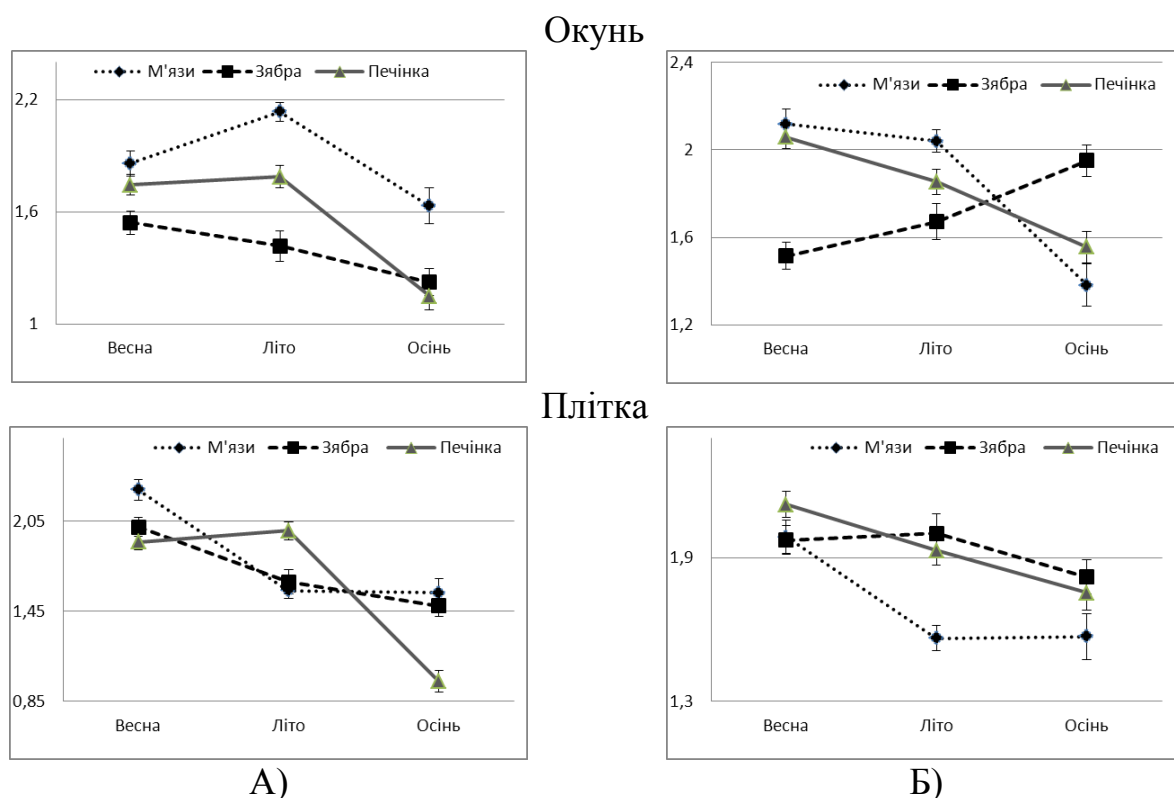


Рис. 5.20. Динаміка індексу термодинамічного контролю дихання (ТДК) у тканинах риб із оз. Кирилівське (А) та оз. Бабине (Б), ($M \pm m$, $n=5$).

Щодо плітки з оз. Кирилівське, то найбільш суттєві зміни ТДК встановлено в її печінці, а саме вірогідне ($P \leq 0,05$) його зниження в осінній період. Інші органи також характеризувались тенденцією до зниження

величини цього показника. Отримані результати свідчать про переважання процесів гідролізу АТФ та АДФ над їх синтезом, як і в окуня. Відповідно, за несприятливих умов знижується інтенсивність клітинного дихання у печінці плітки. Варто відмітити, що за цим критерієм окунь та плітка на дію надмірного антропогенного забруднення реагують однаковим чином. В тканинах плітки з контрольного озера сезонна динаміка величини ТДК зафіксована в дуже вузькому діапазоні.

Отже, динаміка основних біоенергетичних коефіцієнтів дає змогу краще зрозуміти механізми енергетичного забезпечення тканин риб, які знаходять в різних умовах існування. Практично всі отримані данні вказують на те, що в тканинах окуня та плітки з оз. Кирилівське у літній та осінній період енергозатратні процеси домінують над енергогенеруючими. Причиною цього може бути як ускладнення анаболізму риб в умовах високого антропогенного забруднення, так і те, що це є своєрідним механізмом забезпечення процесів ізоляції та детоксикації. В будь-якому випадку, зазначені реакції є практично протилежними до риб з контрольного озера.

5.6. Вміст деяких енергетичних субстратів у тканинах риб за дії антропогенного забруднення водойм.

Нами встановлено, що інтенсивність біосинтетичних процесів у тканинах досліджуваних видів риб мають сезонну залежність. Варто відмітити, що у зябрах плітки з оз. Кирилівське у весняний період зафіксовано доволі високий загальний вміст білків – 342,6 мг/г, проти 161,2 мг/г у риб виду із оз. Бабіне (рис. 5.21). Влітку ж величина цього показника у плітки з оз. Кирилівське у 1,43 рази нижча від її весняного рівня. Підвищений вміст білка у зябрах плітки весною може бути одним з механізмів ізоляції цього органу від несприятливої дії середовища із надмірним забрудненням, викликаним надходженням до водойми токсичних сполук із р. Сирець, в тому числі і фенолів [3, 24]. Відомо, що за дії сполук фенолу, а саме фенолу та крезолу на організм деяких риб

спостерігається зростання вмісту білка у тканинах їх зябер, та одночасне його зниження у печінці, що вочевидь вказує на його тканинний перерозподіл [87].

Оз. Кирилівське серед озер системи Опечень характеризується найвищим вмістом розчиненого і завислого цинку [56]. Встановлено, що цей метал може акумулюватися зябрами риб у значній кількості. Також відомо, що цинк входить до складу чисельних ферментів та визначає перебіг окремих біохімічних реакцій. Тому, надмірний вміст цинку у водоймі може спричинити його депонування у клітинах зябрових пелюсток, тим самим впливаючи на анаболізм білка. Окрім цього встановлено, що вміст таких металів як Cu, Cr (III), Ni, Fe у водоймі також перевищують рибогосподарську ГДК [56]. Значні концентрації марганцю у придонному шарі води озера свідчать про незадовільний стан кисневого режиму та формування анаеробних умов, за яких манган активно мігрує з донних відкладів. Варто відмітити антибатну залежність між концентраціями розчиненого мангану і кисню у воді. Зростання вмісту розчиненого мангану у воді можна розглядати як індикатор незадовільного кисневого режиму у водоймі [56]. Цей чинник може спонукати до негативної дії на фізіологічний стан гідробіонтів, зокрема впливати на процеси біосинтезу білка.

Щодо плітки із оз. Бабине, то найвищий вміст білка у зябрах було встановлено влітку (326,7 мг/г), що вище від весняної та осінньої величини у 2,02 та 1,36 рази відповідно (рис. 5.21). В окуня з обох озер міжсезонна динаміка вмісту білка у зябрах виражена слабо, проте варто відмітити найвища величина цього показника в особин з оз. Бабине у літній період. Це може свідчити про інтенсивний анаболізм білка у зябрах окуня.

Часто інтенсифікацію процесів синтезу білка в печінці риб у переднерестовий період пов'язують із ростом генеративної тканини (дозріванням гонад). У печінці окуня з оз. Кирилівське у весняний період зафіксовано найменший порівняно з іншими сезонами вміст білків. Це підтверджує, що переднерестовий період характеризується активізацією

обмінних процесів у риб, що виражається у різкому посиленні витрат запасних енергетичних сполук, а саме залученні білка в енергетичний обмін.

Також відповідна величина цього показника може бути спричинена ускладненими умовами зимівлі, а саме перепадами кисневого режиму у комплексі із надходженням токсикантів різної природи [4, 24]. Не виключено, що надмірне антропогенне навантаження на оз. Кирилівське могло спричинити порушення у синтезі та перерозподілі білка між тканинами у риб. Внаслідок цього значна його частка використовувалась як альтернативне «джерело енергії» для розвитку адаптивних реакції риб щодо дії несприятливого чинника.

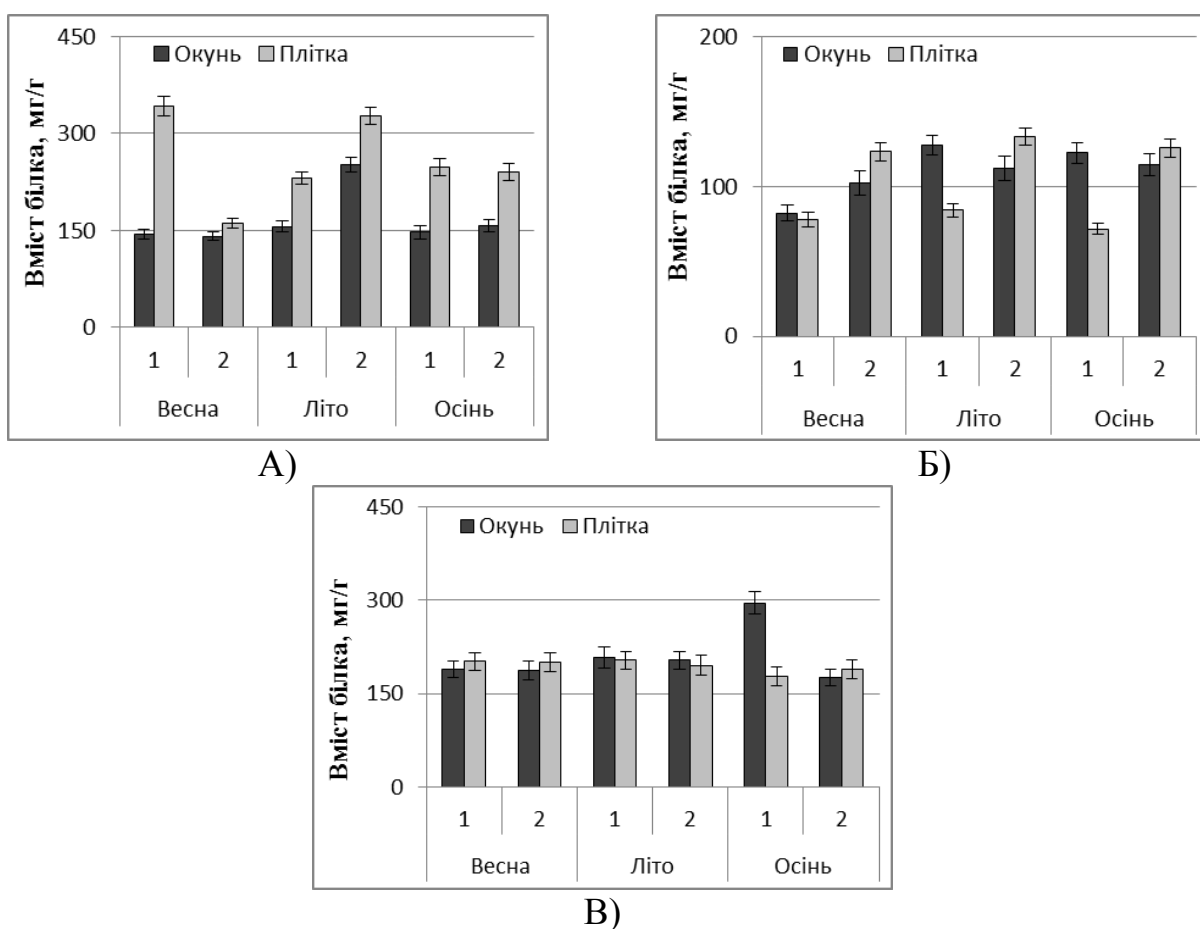


Рис. 5.21. Вміст білка в зябрах (А), печінці (Б) та м'язах (В) риб за дії надмірного антропогенного забруднення водойм, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2 – оз. Бабине

Нестача та нетиповий перерозподіл білка між тканинами могли відобразитись на нормальному проходженні нересту, що підтверджується

значною кількістю нерезорбованої ікри у гонадах окуня. Кінцевим результатом цього може бути деяке виснаження організму окуня, що виражається у низькому вмісті білка в його печінці.

У печінці плітки із оз. Кирилівське у всі досліджені сезони вміст білка кількісно менший, ніж у риб із оз. Бабіне (рис. 5.21). Це може бути наслідком залучення цього субстрату у процесах, пов'язаних із детоксикацією організму. Враховуючи, що процеси детоксикації енергозатратні, то вірогідно вони могли спричинити утилізацію білка. Окрім цього зміна вмісту білка у печінці плітки може бути пов'язана з одним із екологічних чинників забрудненого озера, зокрема підвищених концентрацій важких металів (міді, нікелю, мангану, цинку). Відомо, що інтенсивне накопичення цих металів в організмі риб викликає деякі порушення в процесах метаболізму пластичних сполук [228]. До того ж встановлено, що деякі важкі метали здатні викликати функціональні порушення органів кровотворення і розмноження. Внаслідок цього може відбуватись деяке пригнічення процесів гемопоезу та гаметогенезу [21].

У м'язах риб з обох досліджуваних озер змін вмісту білка в різні сезони року не виявлено. Можна лише відмітити восени деяке підвищення вмісту білка у білих м'язах окуня із оз. Кирилівське.

Досліджено також зміни вмісту глікогену у печінці риб в різні сезони року. Вміст глікогену у печінці плітки із оз. Бабіне у весняний період вірогідно ($P \leq 0,05$) вищий у 2,81 раза щодо плітки із оз. Кирилівське (рис. 5.22). Величина цього показника у риб з оз. Бабіне може свідчити про накопичення глікогену організмом плітки у переднерестовий період. У оз. Кирилівське поряд із чисельними важкими металами, що перевищують ГДК, встановлений високий вміст СПАР та нафтопродуктів, які перевищували ГДК у 4,5 та 9,8 раза відповідно [56]. Ці сполуки вважаються більш токсичними за метали. В сукупності токсиканти створюють забруднення, яке є надмірним для цієї водойми, яке може вплинути на метаболізм риб в цілому та визначати рівновагу між процесами глікогенезу та глікогенолізу.

У плітки з оз. Кирилівське спостерігається накопичення глікогену у печінці з весни до осені (рис. 5.22). Згідно попередніх досліджень на цих же рибах у зазначених водоймах вміст глюкози в плазмі крові плітки із оз. Кирилівське весною нижчий, ніж влітку [225], що позитивно корелює із вмістом глікогену у печінці. Враховуючи, що вміст білків у печінці плітки весною нижчий, порівняно з літом, то можна припустити, що процеси глюконеогенезу у цього виду домінували над процесами глікогенолізу. Глюкоза більшою мірою утворювалася із амінокислот [200].

У плітки з оз. Бабіне спостерігається зворотна закономірність щодо вмісту глюкози та глікогену, що може вказувати на активний перебіг глікогенолізу.

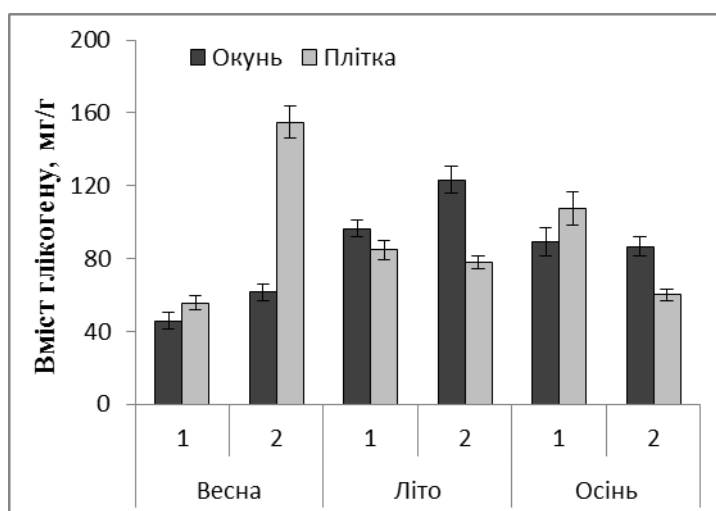


Рис. 5.22. Вміст глікогену в печінці риб за дії надмірного антропогенного забруднення водойм, ($M \pm m$, $n=5$).

Примітка: 1 – оз. Кирилівське (Опечень II), 2– оз. Бабіне

Щодо окуня із оз. Кирилівське, то найвищий вміст глікогену у його печінці зафіксовано влітку (96 мг/г) (рис. 5.22). У риб із оз. Бабіне найвищий вміст цього субстрату встановлено також влітку, а саме 122 мг/г, що вище за рівень весняних та осінніх величин у 1,96 та 1,41 раза відповідно.

Варто відмітити, що кількісно вміст глікогену у печінці окуня з оз. Кирилівське нижчий, ніж у особин з контрольного озера. Очевидно, що риби із

забрудненого озера активно використовують цей субстрат для своїх енергетичних потреб. Не виключено також, що накопичення цього вуглеводу окунем з обох озер влітку може бути механізмом протидії гіпоксичним умовам, які виникали внаслідок підвищення температури води, а в оз. Кирилівське ще й токсичною дією антропогенного забруднення.

Таким чином встановлено, що істотне антропогенне забруднення водою впливає на характер перерозподілу тиреоїдних гормонів та кортизолу у крові окуня та плітки в різні пори року. Підвищення їх вмісту в окремі сезони свідчить про інтенсифікацією генерування енергії в тканинах риб внаслідок підвищення активності окисно-відновних реакцій. Тако було виявлено, що в процесі адаптації риб до дії антропогенного забруднення процеси гідролізу АТФ та АДФ у тканинах переважають над їх синтезом. В результаті чого аденілатний пул у тканинах риб переважно представлений низькоенергетичним фосфатом, що підтверджується низькою величиною аденілатного енергетичного заряду порівняно з рибами із умовно чистих водойм.

РОЗДІЛ 6 УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Описані вище результати дослідження висвітлюють особливості регуляції процесів енергозабезпечення у тканинах риби за дії різних екологічних чинників, зокрема підвищеної температури та мінералізації води, надмірного антропогенного забруднення водойм. Чисельні автори досліджували реакцію риби на астатичність згаданих показників, при цьому акцентуючи увагу на окремі біохімічні показники їх метаболізму або на масо-розмірні характеристики риби. Наші зусилля спрямовані на комплексні дослідження енергозабезпеченості організму риби при їх адаптації до широкого спектру змін у зовнішньому середовищі. Стійкість риби до абіотичних та антропогенних чинників визначається наявністю енергетичних депо та механізмів їх ефективного використання. Тому енергетичний обмін є тією функціональною базою, на якій розвивається всі пристосувальні процеси [23, 112, 119, 121].

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що первинна реакція у різних видів риби на дію підвищеної температури води може суттєво відрізнятися. При цьому, за підвищенням температури води вище зони толерантності риби нормальне функціонування енергетичного обміну в їх організмі погіршується та за тривалої дії цього чинника призводить до енергетичного виснаження. Так, у коропа відмічене поступове зменшення вмісту тироксину та трийодтироніну у плазмі крові за підвищення температури води до 34°C. Варто припустити, що причиною таких змін є сповільнення катаболічних процесів в організмі коропа. Не виключено, що подібні фізіологічні перебудови можуть супроводжуватися зменшенням генерування енергії внаслідок зниження активності окисно-відновних реакцій, що доводять і дослідження інших авторів [35, 36, 43, 64].

Пропорційне підвищення вмісту T4 та T3 у плазмі крові плітки з підвищенням температури води вказує на активацію обмінних процесів спрямованих на протидію несприятливому чиннику, а також деяке пригнічення

взаємного конвертування цих гормонів. Низка авторів пов'язують такі зміни із інактивацією дихального ланцюга мітохондрій (ДЛМ), що ускладнює механізми подолання негативної дії підвищеної температури води, а також компенсації гіпоксичного стану тканин [72, 88, 185].

Вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові окуня свідчить про прискорення енерговитрат в його організмі спочатку та у подальшому активацію енергогенеруючих процесів при підвищенні температури. Також, як і в коропа, це може свідчити про перебудову його метаболізму в бік сповільнення катаболічних реакцій у тканинах.

Необхідно зазначити, що вірогідне зниження рівня глюкози в плазмі крові плітки, можливо, пов'язане з використанням цього субстрату на процеси енергозабезпечення адаптації до зростання температури. За показниками вмісту кортизолу в плазмі крові цього виду очевидно, що розвивається стрес-реакція, яка супроводжується мобілізацією енергетичних ресурсів [52, 145, 148, 153, 199]. Подібна реакція дозволяє плітці заощаджувати енергетичні ресурси та дозволяє повернути організм у стан гомеостазу після дії стрес-агента. Враховуючи отримані результати, варто відмітити, що плітка є менш резистентним видом до дії підвищеної температури води, ніж окунь та короп.

За активністю ферментів енергетичного обміну показано, що короп та окуня активніше залучає аеробні процеси енергозабезпечення на пристосування до змін температурних умов, тоді як у плітки зафіксовано розвиток гіпоксичного стану тканин. Також варто відмітити, що підвищення температури води спричиняє реорганізацію компонентів аденілатного пулу тканин всіх досліджених видів риб [229]. У коропа функціонування процесів окиснювального фосфорилування практично не порушується із підвищенням температури води, тоді як окунь та плітка в багатьох випадках залучають менш ефективне субстратне фосфорилування. При цьому в окремих тканинах плітки був відмічений розвиток гіпоенергетичного стану [229, 230, 231, 232].

Цікавим є те, що за підвищених температурних умов короп та окунь накопичують глікоген у печінці, що може бути результатом активації

глікогенезу. Не виключено також, що підвищена температура може інгібувати ферментативну систему процесу глікогенолізу в цих видів, в результаті чого накопичується цей субстрат. Варто відмітити значне зменшення кількості глікогену в печінці плітки, що може бути наслідком його включення в процеси енергетичного обміну [233].

Встановлені нами основні закономірності функціонування енергетичного обміну в тканинах риб за дії підвищеної температури води наведено на рис. 6.1.

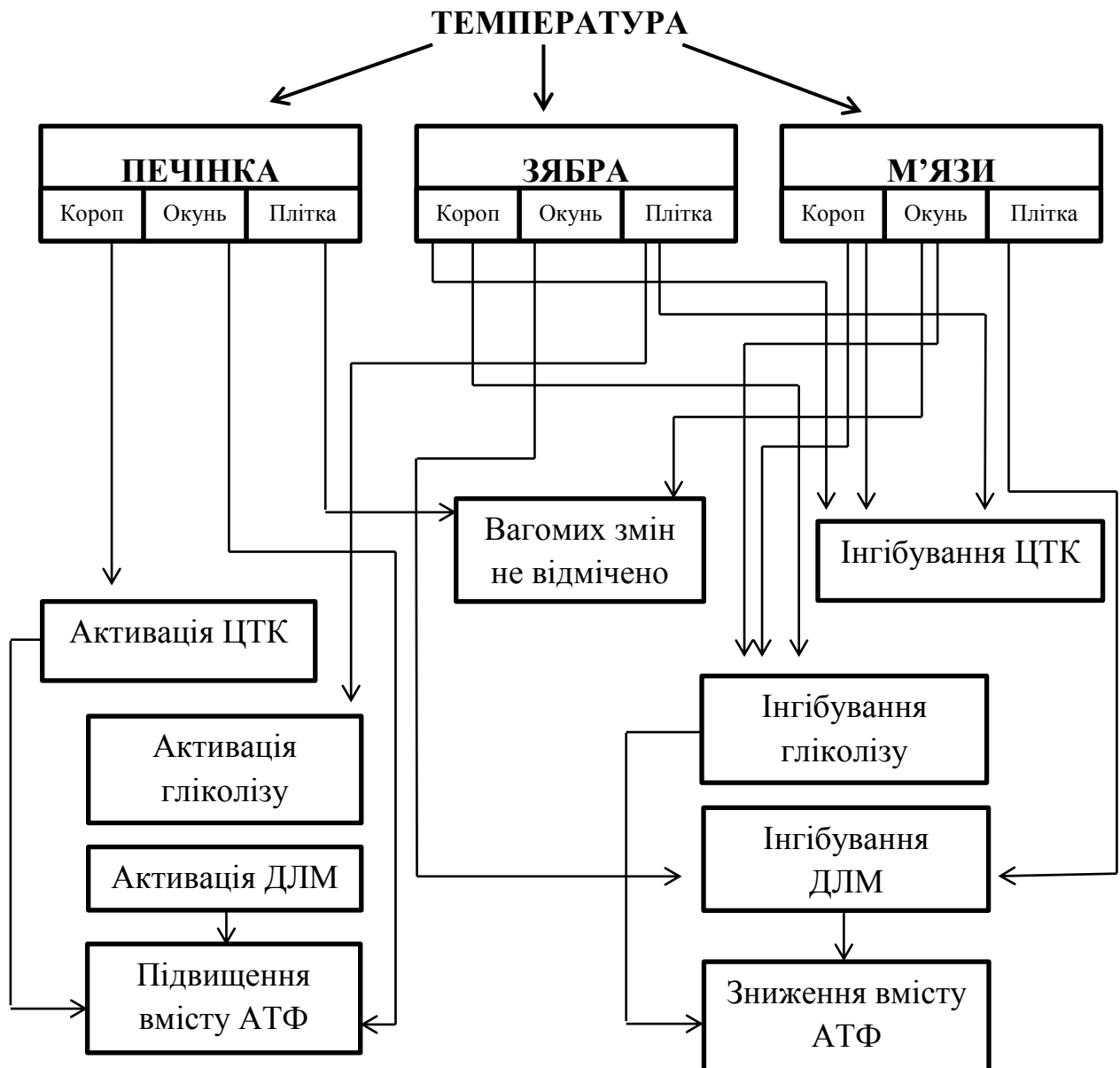


Рис. 6.1. Особливості функціонування основних шляхів генерування енергії в тканинах риб при адаптації до підвищеної температури води.

Примітка: ЦТК – цикл трикарбонових кислот; ДЛМ – дихальний ланцюг мітохондрій

Отримані результати можуть бути використані для розширення розуміння екологічної пластичності різних видів риб в умовах мінливого навколишнього середовища [234-236].

За дії підвищеної мінералізації води реакція риб була дещо іншою. Оцінюючи всі визначені нами критерії, її варто вважати також видоспецифічною. Збільшення концентрації йонів у воді викликає в організмі риб реорганізацію осморегуляційних процесів, що в більшості випадків проявляється в активації або інгібуванні основних шляхів генерування енергії. Встановлена важлива роль гормональної системи риб в регулюванні цих процесів, зокрема гормонами щитоподібної та інтерренальної залози. В окуня та плітки по мірі підвищення мінералізації встановлено зростання вмісту Т3, що викликає активацію енергетичного обміну, спрямовану на забезпечення осморегуляції [75, 98, 99, 214]. Короп очевидно легше пристосовується до змін мінералізації в певних межах, ніж окунь та плітка. Про це свідчить зафіксований нами практично рівний вміст Т3 у плазмі крові при мінералізації 2,0 та 0,5 г/дм³.

За змінами вмісту кортизолу у крові видно, що окунь складно пристосовується до значного підвищення мінералізації води. Це чітко проілюстровано на його адаптивній реакції, коли зниження вмісту кортизолу могло стати причиною активного конвертування Т4 у Т3. Чисельні автори пов'язують такі зміни із посиленням окислювальних процесів за безпосередньої участі трийодтироніну та використання енергоресурсів для забезпечення внутрішньотканинного гомеостазу [214].

В окуня та плітки відмічена подібні реакції за активністю окремих ферментів енергетичного обміну на зміну мінералізації води. Пряма кореляція зміни активності ЦО та СДГ на вплив підвищеної мінералізації дає право стверджувати, що збільшення концентрації солей у воді пригнічує функціонування аеробного шляху генерування енергії в тканинах цих видів. Також, за активністю ЦО помітно інгібування дихального ланцюга мітохондрій, особливо в зябрах окуня та плітки.

Динаміка вмісту та співвідношення аденілових нуклеотидів вказує на те, що за дії підвищеної мінералізації риби в основному пристосовуються через посилення синтезу АТФ, використовуючи на це запаси основних енергетичних субстратів. Варто також відмітити, що сумарний вміст АТФ+АДФ+АМФ у м'язах та зябрах коропа вірогідно ($P \leq 0,05$) підвищується по мірі зростання мінералізації води, що є свідченням активації біоенергетичних процесів в його організмі для достатнього енергетичного забезпечення адаптивних реакцій. Динаміка основних біоенергетичних індексів (ЕЗ, ІФ, ЕП, КП, ТДК) у тканинах окуня та плітки свідчать про ресинтез АТФ відбувається через гліколіз. Наслідком цього є недостатня кількість генерування високоенергетичного фосфату.

Встановлені нами основні закономірності функціонування енергетичного обміну в тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води наведено на рис. 6.2.

Таким чином, можна дійти висновку, що зміна балансу аденілових нуклеотидів може спричинити розлад йонного обміну в тканинах риб, особливо в умовах значної мінералізації води.

Щодо основних енергетичних субстратів, то встановлено, що плітка та окунь активно залучають глікоген в процеси енергетичного забезпечення адаптивних процесів. Однак не виключено, що процеси глікогенезу в печінці цих видів інгібуються дією підвищеної мінералізації води. Також було відмічено, що короп залучає білки у процесах адаптації, але менш, ніж інші субстрати. На збільшення мінералізації води плітка реагувала вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням вмісту загальних білків у зябрах. Очевидно, протилежно до коропа та окуня, в зябрових пелюстках плітки білки використовуються як основне джерело енергії для забезпечення осморегуляційних процесів.

Також нами було досліджено вплив надмірного антропогенного забруднення водойми на стан енергетичного обміну в організмі риб. Для цього ми порівняли біохімічні показники риб із двох озер м. Києва, в одне з яких регулярно потрапляють токсиканти антропогенного походження (оз. Кирилівське), а інше вважається відносно чистим (оз. Бабине). Дослідження

проводили у три сезони року, оскільки гідрохімічний режим зазначених озер змінюється протягом року.

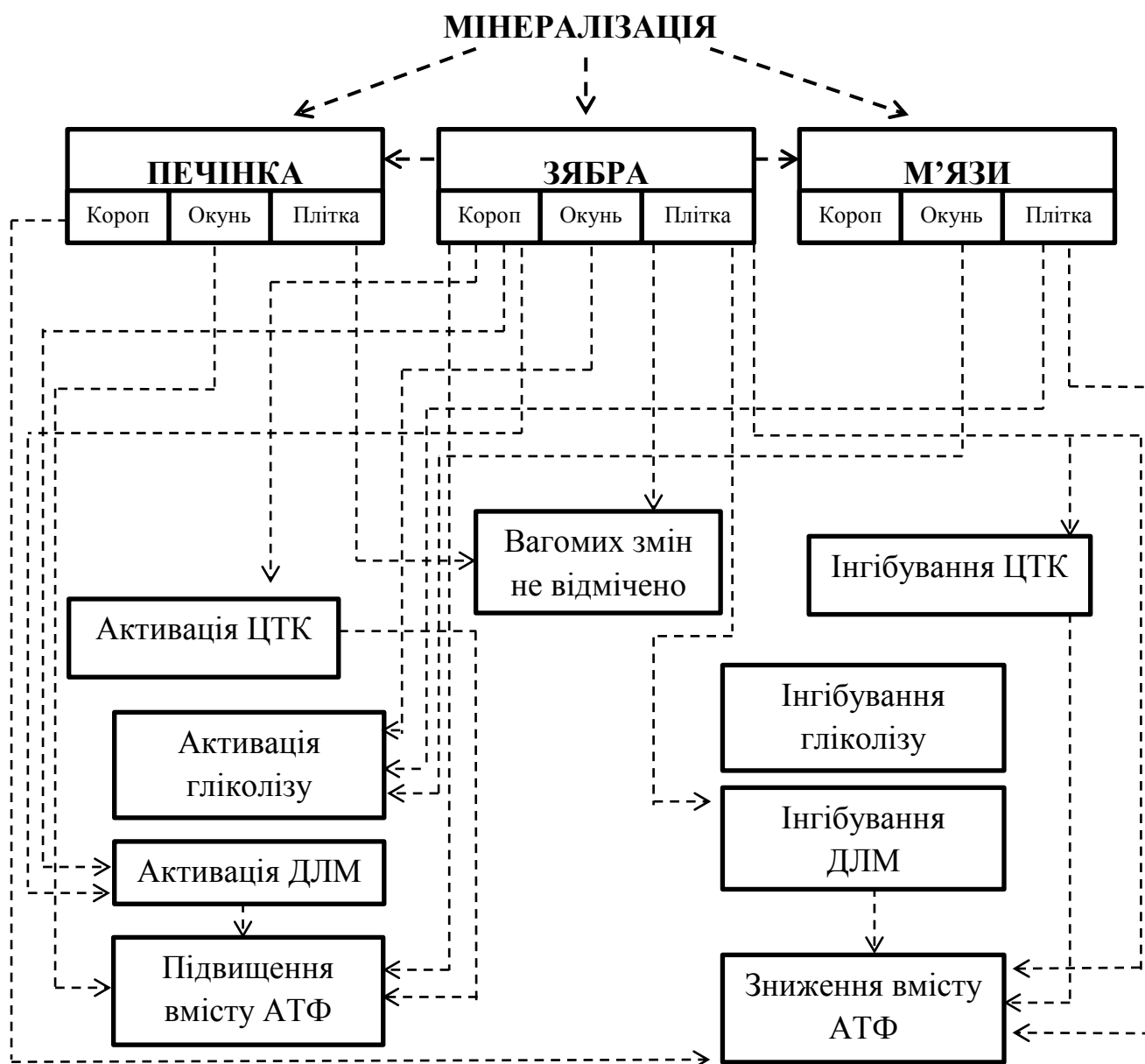


Рис. 6.2. Особливості функціонування основних шляхів генерування енергії в тканинах риб при адаптації до підвищеної мінералізації води.

Примітка: ЦТК – цикл трикарбонових кислот; ДЛМ – дихальний ланцюг мітохондрій

Результати біохімічних досліджень плітки та окуня із різних озер показують, що гідрологічний та гідрохімічний режими водойм, які змінюються

в результаті їх антропогенного забруднення, істотно впливають на фізіологічний стан риб.

У весняний період надмірне антропогенне навантаження на оз. Кирилівське викликає реорганізацію енергетичних процесів у риб, результатом чого є сповільнення катаболічних реакцій в їх тканинах. Також у цей період окунь та плітка реагують підвищенням вмісту кортизолу у крові на погіршення екологічного стану озера. Цікаво також те, що весною відмічено нижчий вміст тироксину та трийодтироніну в крові окуня із оз. Кирилівське порівняно із оз. Бабине, що, ймовірно, спричинене перепадами кисневого та температурного режиму підчас нересту [237].

Підвищення вмісту тироксину у плітки та суми тиреоїдних гормонів у окуня за дії посиленого антропогенного навантаження у літній період свідчить про зростання негативної дії токсичних речовин на фізіологічний стан риб по мірі підвищення температури води. Це пов'язано із прискоренням процесів генерування енергії в організмі, внаслідок підвищення активності окисно-відновних реакцій, а також різним ступенем споживання кисню тканинами за ускладнених умов існування [225].

Варто відмітити те, що влітку у плітки із оз. Бабине вміст кортизолу був в 2,0 рази вищий, ніж у риб із оз. Кирилівське. Це може бути наслідком порушення мобілізації енергетичних сполук у риб із оз. Кирилівське. Щодо глюкози, то збільшення її вмісту у плазмі крові окуня із оз. Кирилівське влітку спрямовано на протидію токсичним речовинам навколишнього середовища. В той же час, зниження вмісту глюкози у крові плітки із оз. Кирилівське ймовірно є наслідком підвищеної її утилізації для забезпечення енергетичного гомеостазу організму за подібних умов існування.

Дослідження активності ферментів енергетичного та йонного обміну показали, що в організмі риб із забрудненого озера енергозатратні процеси влітку домінують над енергогенеруючими. Підтвердженням цього може слугувати значне зниження активності СДГ та ЦО в тканинах окуня з оз. Кирилівське в літній період. Подібну ситуацію також відмічено в зябрах плітки

із цього озера. Це вказує на пригнічення аеробних процесів в результаті впливу токсикантів, внаслідок чого генерується недостатня кількість енергії для забезпечення процесів детоксикації [17, 24, 25, 225].

Зміни вмісту та співвідношення аденілових нуклеотидів вказують на те, що у риб із забрудненого озера процеси гідролізу АТФ та АДФ переважають над їх синтезом. В результаті цього аденілатний пул у тканинах переважно представлений АМФ. Однак, динаміка основних біоенергетичних коефіцієнтів дає змогу краще зрозуміти механізми енергетичного забезпечення тканин риб, які знаходять в різних умовах існування. Практично всі отримані данні вказують на те, що в тканинах окуня та плітки з оз. Кирилівське у літній та осінній період енергозатратні процеси домінують над енергогенеруючими. Причиною цього може бути як ускладнення анаболізму риб в умовах значного антропогенного забруднення, так і те, що це є своєрідним механізмом забезпечення процесів адаптації та детоксикації. В будь-якому випадку, зазначені реакції є практично протилежними до риб з контрольного озера [225].

Таким чином, розглянувши вплив таких абіотичних чинників, як підвищена температура та мінералізація води, а також надмірного антропогенного забруднення водойм на функціонування енергетичного обміну в організмі риб, нами було встановлено видоспецифічну реакцію на діючий чинник. У певному діапазоні дії чинника зафіксовано адаптивні реакції, які проявляються в активації метаболічних процесів спочатку, та їх інгібування за більш інтенсивного впливу несприятливих умов. Найбільший адаптивний потенціал виявляв короп, але окунь та плітка також мають своєрідні компенсаторні механізми. Однак не важко передбачити, що сумісна надмірна дія досліджених чинників може нести летальні наслідки для риб.

ВИСНОВКИ

В результаті вивчення особливостей накопичення гормонів у плазмі крові, формування співвідношення аденілових нуклеотидів, активності ферментів енергетичного обміну а також кількості основних енергетичних субстратів у тканинах коропа, окуня та плітки в процесі адаптації до підвищення температури й мінералізації води та її надмірного антропогенного забруднення встановлено, що досліджувані види риб залучають альтернативні шляхи енергозабезпечення тканин.

На підставі отриманих даних можна сформулювати наступні висновки:

1. Короп компенсує дію підвищення температури води з 24 °С до 34 °С шляхом сповільнення активності метаболічних реакцій в тканинах за рахунок зменшення вмісту тиреоїдних гормонів в плазмі крові в 1,5–1,9 рази. Водночас, плітка значно активує метаболічні процеси, внаслідок чого розвивається стрес-реакція, збільшується вміст тироксину, трийодтироніну та кортизолу у плазмі крові в 3,8, 2,6 та 2,1 рази відповідно. Для окуня адаптивні межі за вмістом гормонів знаходяться в діапазоні температури 24–26 °С.
2. За коливань температури у 7–8 °С протягом доби в тканинах плітки значно інгібуються аеробне дихання, енергетичний обмін переважно функціонує через гліколіз, що підтверджується суттєвим зниженням активності сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази та підвищенням активності лактатдегідрогенази в зябрах і м'язах. У тканинах коропа та окуня відбувається активація аеробного генерування енергії.
3. У процесі адаптації до підвищення температури води від 24°C до 34°C та її коливань протягом доби на 2–8 °С, у всіх досліджуваних видів риб енергозатратні процеси домінують над енергогенеруючими, що підтверджується зниженням вмісту АТФ та збільшення частки АМФ в аденілатному пулі.

4. При підвищенні мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ у зябрах коропа та окуня, на відміну від плітки, значно активуються йонообмінні процеси з вірогідним зростанням АТФ-азної активності. Основним шляхом генерування АТФ у коропа є аеробне дихання при збільшенні активності СДГ та ЦО, окунь та плітка застосовують гліколіз, на що вказує пригнічення активності ферментів аеробного дихання та підвищення активності ЛДГ.
5. Плітка виявляє найменший адаптивний потенціал до дії підвищеної мінералізації води, свідченням чого є зниження вмісту АТФ в її м'язах та зябрах у 1,7 і 1,8 рази відповідно, зростання частки АМФ та зменшення величини аденілатного енергетичного заряду за мінералізації води 2,0 г/дм³.
6. При адаптації до підвищення мінералізації води від 0,5 до 2,0 г/дм³ окунь та плітка активно використовують глікоген на забезпечення енергетичних потреб, його вміст у печінці знижується у 1,6–2,5 рази. Крім того, плітка залучає також білки, що призводить до істотного зменшення їх кількості у тканинах.
7. У відповідь на антропогенне забруднення водойми спостерігається перерозподіл тиреоїдних гормонів та кортизолу у крові окуня та плітки. Підвищення їх вмісту в окремі сезони свідчить про інтенсифікацією генерування енергії в тканинах риб внаслідок підвищення активності окисно-відновних реакцій.
8. В процесі адаптації риб до дії антропогенного забруднення процеси гідролізу АТФ та АДФ у тканинах переважають над їх синтезом. В результаті, аденілатний пул у тканинах риб переважно представлений низькоенергетичним фосфатом, що підтверджується низькою величиною аденілатного енергетичного заряду порівняно з рибами із умовно чистих водойм.
9. На надмірне антропогенне забруднення води в комплексі із підвищенням її температури риби реагують збільшенням вмісту глікогену у печінці, що може бути складовою адаптивних механізмів протидії гіпоксичним умовам.

10. Найбільш значну перебудову енергетичного обміну в організмі риб спричиняє підвищена температура води, при цьому плітка відзначається найменшою резистентністю до цього чинника.
11. Оскільки зростання температури та підвищення мінералізації води стимулюють у тканинах риб (більшою мірою, окуня та плітки) активацію гліколізу та пригнічення аеробного дихання, то їх сумісна дія може призвести до вичерпання всіх енергетичних ресурсів та спричинити зниження життєстійкості риб.
12. Забруднення водного середовища порушує формування адаптивних реакцій риб, підвищення температури води та зміна її мінералізації в літній період ускладнює енергетичний обмін в організмі риб, що призводить до активізації альтернативних шляхів енергозабезпечення в окуня та плітки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Лукьяненко В.И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. Москва: Агрпроомиздат, 1987. 240 с.
2. Banaee M. Adverse effect of insecticides on various aspects of fish's biology and physiology // *Insecticides-Basic and Other Applications Book*, Edited by Sonia Soloneski and Marcelo Larramendy, Published by InTech, Chapter. 2012. Vol. 6. P. 101–126.
3. Екологічні проблеми київських водойм і прилеглих територій / Романенко О.В. та ін. Київ: Наукова думка, 2015. 189 с.
4. Немова Н.Н. Механизмы биохимической адаптации у водных организмов // *Экологические и эволюционные аспекты*. 2010. С. 198–214.
5. Шульман Г.И., Финенко Г.А. Физиолого-биохимические аспекты энергетического обмена у рыб // *Биоэнергетика гидробионтов*. Киев: Наукова думка, 2001. С. 17–20.
6. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. Москва: Мир, 1988. 568 с.
7. Hochacka P.W. Biochemical adaptation mechanism and process in physiological evolution // *New York, London Oxford University Press US*. 2002. 466 p.
8. Фізіолого-біохімічні особливості метаболізму окуневих риб з різних популяцій / Причепка М.В. та ін. // *Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України: I Всеукр. наук.-практ. конф., 8-9 жовт. 2014 р.*: Дніпропетровськ, 2014. С. 82–85.
9. Есипова Н.Б., Федоненко Е.В., Шарамок Т.С. Эколого-физиологическая характеристика рыб, обитающих в зоне антропогенного загрязнения // *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Біологія*. 2005. № 3. С. 150 – 152.
10. Нагорна Н.В., Четвертик Н.А., Федорова А.А. Енергетичний обмін клітини в нормі й патології. Можливості його оцінки // *Клінічна геронтологія*. 2008. № 6. С. 58.

11. Некоторые аспекты энергетического и пластического обмена у промысловых рыб Запорожского водохранилища в условиях загрязнения тяжелыми металлами / Федоненко, Т.В. и др. // Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации гидробионтов: Всерос. Конф., 12 сент. 2012 г.: Борок, 2012. С. 182–184.
12. Роль гликолиза при холодовой адаптации карася серебряного *Carassius auratus gibelio* / Гулевский А.К. и др. // Пробл. криобиологии. 2007. № 1. С. 64–70.
13. Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Механизмы температурной акклимации рыб. Киев: Наукова думка, 1991. 192 с.
14. Alesander A., Verna O.P., Mathur A. Evaluation of changes in metabolic parameters and enzymes involved in metabolic pathways in *Clarias botrachus* after exposed to phenolic compounds // Asian journal of biomedical and pharmacential sciences. 2013. Vol. 3, № 21. P. 60–67.
15. Эмертли Н.В., Русинова О.С. Активность ферментов основных путей окисления углеводов в тканях рыб // Гидробиол. журнал. 2001. Т. 37(1). С. 79–86.
16. Bremer K., Moyes C. D. Origins of variation in muscle cytochrome c oxidase activity within and between fish species // J. Exp. Biol. 2011. Vol. 214. P. 1888–1895.
17. Лукин А.А. Особенности адаптивных реакций рыб в условиях антропогенного стресса // Первый конгресс ихтиологов России: тез. докл. Астрахань, 1997. 159 с.
18. Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб и беспозвоночных. Москва: Наука, 2000. 216 с.
19. Особливості пристосування риб до зміни температури і мінералізації води за показниками вмісту трийодтироніну, кортизолу і глюкози у плазмі крові / Потрохов, О.С. та ін. // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Біологія. 2017. № 1. С. 89–95.

20. Seebacher F. Responses to temperature variation: integration of thermoregulation and metabolism in vertebrates // J. Exp. Biol. 2009. Vol. 212. P. 2885–2891.
21. Федоненко О.В., Єсіпова Н.Б., Шарамок Т.С. Екологічний стан біоценозів Запорізького водосховища в сучасних умовах. Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетр. ун-ту., 2008. 232 с.
22. Немова Н.Н. Оценка состояния водных организмов по эколого-биохимическому статусу // Северные территории России: проблемы и перспективы развития: Междунар. научн. конф., 23 июня 2008 г.: Архангельск, 2008. С. 995–998.
23. Бретт Д., Гроувс Т. Физиологическая энергетика. Биоэнергетика и рост рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. С. 203-274.
24. Ананьєва Т.В., Лісова К.Г. Біохімічний склад тканин промислових риб Запорізького водосховища в умовах антропогенного забруднення // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: Наук.-практ дистанційна конференція., 24–25 квітня 2014 р.: Дніпропетровськ, 2014. С. 130–131.
25. Безімова М, Прилуцька О. Динаміка вмісту білку у тканинах риб, що мешкають в умовах антропогенного навантаження // Шевченківська весна: Міжнарод. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених.:Київ, 2007. С. 6–8.
26. Мартемьянов В.И., Борисовская Е.В. Показатели водно-солевого обмена у вселившегося в Рыбинское водохранилище бычка-цуцика *Proterorhinus marmoratus Pallas* и аборигенного карпа *Cyprinus carpio L.* в зависимости от солёности среды // Росс. журн. биол. Инвазий, 2012. № 1. С. 46–57.
27. Abraham J.P. A review of global ocean temperature observations: Implications for ocean heat content estimates and climate change // Rev. Geophys. 2013. Vol. 51, № 3. P. 450–483.
28. Тимченко В.М. Экологическая гидрология водоемов Украины. Київ: Наукова думка, 2006. 384 с.

29. Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем / Жежеря В.А. та ін. // III науково-практ. конф. для молодих вчених, 6-7 жовтня 2016 р. :Київ, 2016. С. 20–23.
30. Комплексна оцінка екологічного стану басейну Дніпра / Романенко В.Д. та ін. Київ: Ін-т. гідробіології НАНУ, 2000. 103 с.
31. Якість води у міських водоймах та характер освоєння водоохоронних зон (на прикладі озер системи «Опечень», м. Київ) / Панасюк І.В. та ін. // Екологічна безпека та природокористування. 2015. № 4(20). С. 63 – 69.
32. Жежеря В.А., Линник П.М., Жежеря Т.П. Особливості міграції й трансформації біогенних речовин і сполук металів у воді р. Либідь (м. Київ) // Наук. пр. УкрНДГМІ. 2014. Вип. 266. С. 45–57.
33. Коваль В.О., Яковенко Б.В. Вплив токсикантів на активність лактатдегідрогенази в організмі коропа // Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. ім. В.Гнатюка. сер.: Біологія. 2005. 3(26). С. 210 –211.
34. Курило С. М. Основні тенденції багаторічних змін мінералізації води та вмісту головних іонів у річках України // Гідрохімія. Гідрологія. Гідроекологія. 2016. Т. 2, № 41. С. 85–90.
35. Acclimation of *S. aurata* to various salinities alters energy metabolism of osmoregulatory and nonosmoregulatory organs // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2003. Vol. 285. P.897–907.
36. Brett J.R. Energetic responses of salmon to temperature. A study of some thermal relations in the physiology and freshwater ecology of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) // *Amer. Zool.* 1971. Vol. 11. P. 99-113.
37. Study on biochemical changes in the freshwater fish, *Catla catla* (Hamilton) exposed to the heavy metal toxicant cadmium chloride // *Katmandu univer J. engineering and technology.* 2007. Vol. 1, № 4. P. 1–11.
38. Clarke A., Portner H.O., Playle R.C. Temperature and energetics: an introduction to cold ocean physiology. *Cold ocean physiology.* Cambridge: Cambridge University Press, 1998. P. 3-30.

39. Vinogradov G.A., Martemyanov V.I., Shcheglova N.B. Vliyanie ekologicheskikh faktorov na pokazateli vodno-solevogo obmena dreisseny *Dreissena polymorpha*. Effect izmeneniya temperatury vody // *Biologiya vnutrennikh vod*. 2004. № 1. S. 48–52.
40. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning / Jobling M. [et al.] // *Fish Ecophysiology*. Fish and Fisheries Series. London: Chapman & Hall., 1993. Vol. 9. P. 1-44.
41. The impact of temperature on the metabolome and endocrine metabolic signals in Atlantic salmon (*Salmo salar*) / Kullgren A. [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2013. Vol. 164, № 1. P. 44–53.
42. Christiansen J.S., Johnsen H.K., Jobling M. The combined effect of ambient temperature and enforced sustained swimming activity on body temperature of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) // *J. therm. Biol.* 1991. Vol. 16. P. 351-355.
43. Somero G. N. The physiology of global change: linking patterns to mechanisms // *Ann Rev. Mar. Sci.* 2012. N 4. P. 39–61.
44. Kelsch S.W., Neill W.H. Temperature preference versus acclimation in fishes: selection for changing metabolic optima // *Trans. Amer. Fish. Soc.* 1990. Vol. 119. P. 601-610.
45. Martin D. P. P. Biochemical Study of freshwater fish *Catla catla* with reference to mercury chloride // *Iran. J. Environ. Health Sci. Eng.* 2008. Vol. 5 (2). P. 109–116.
46. Гребінь В.В. Сучасний водний режим річок України (ландшафтно-гідрологічний аналіз). Київ: Ніка-Центр, 2010. 316 с.
47. Fatma A.S. Environmental pollution-induced biochemical changes in tissues of *tilapia zillii*, *Solea Vulgaris* and *mugil carpito* from lake Qarun, Egypt // *Global Veterenaria*. 2008. Vol.2 (6). P. 327–336.
48. Шахматова О.А. Отклик гидробионтов на стрессовые факторы морских экосистем // *Экосистемы их оптимизация и охрана*. 2012. Вип. 7. С. 98–113.
49. Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Худіяш Ю.М. Гормональний статус окуня та плітки за зміни екологічних чинників водного середовища // *Наук.*

записки Тернопіл. Нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. 2015. № 3–4. С. 539–543.

50. Зданович В.В., Пушкарь В.Я., Келехсаев М.З. Особенности роста и энергетики молоди радужной форели *Parasalmo (oncorhynchus) mykiss* при постоянной температуре и её кратковременных периодических отклонениях в верхнюю субоптимальную зону // Вопросы ихтиологии. 2011. Т. 51. №. 4. С. 494-501.

51. Причепка М.В., Потрохов О.С. Фізіолого-біохімічний стан окуневих риб у зимовий період // Гідробіол. журн. 2014. Т. 50. №. 5. С. 100–108.

52. Mancera J.M., Laiz-Carrión R., Martín del Río M.P. Osmoregulatory action of PRL, GH, and cortisol in the gilthead seabream *Sparus aurata* L. // Gen. Comp. Endocrinol. 2002. Vol. 129. P. 95–103.

53. Білявський Г.О., Фурдуй Р.С., Костіков І.Ю. Основи екології: Підручник. Київ: Либідь, 2005. 408 с.

54. Арсан В.О. Енергозабезпечення організму коропа при адаптації до змін концентрації іонів важких металів у водному середовищі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.10 «Іхтіологія». Київ, 2004. 20 с.

55. Фізіолого-біохімічні особливості метаболізму окуневих риб з різних популяцій / Причепка М.В. та ін. // Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України: І Всеукр. науково-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, 8-9 жовтня 2014 р.: Дніпропетровськ, 2014. С. 82–85.

56. Гідрохімічний режим озер системи Опечень (м. Київ) / Линник П.М. та ін. // Наук. праці Українського науково-дослідного гідрометеорологічного інституту. 2016. Вип. 269. С. 59–69.

57. Акімова О.Р., Кураєва І.В., Злобіна К.С. Літологічна характеристика і геохімічний розподіл важких металів у поверхневих водах і донних відкладах Київського мегаполісу // Екологія і природокористування. 2013. Вип. 17. С. 98–104.

58. Сергеева Н.Р., Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. Краснодар: Наука, 2008. 157 с.
59. Рощина О.В. Влияние природных и антропогенных факторов на активность ферментов сыворотки крови черноморских рыб (на примере морского ерша): Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спеціальність 03.00.16 «Екологія». Москва, 2010. 23 с.
60. Щербак В.І., Семенюк Н.Є. Функціональна характеристика фітопланктону водойм мегаполісу // Наукові записки Терноп. нац.пед. ун-ту ім. В.Гнатюка. Серія: Біологія. 2010. № 2 (43). С. 556–559.
61. Карамушко Л.И., Шатуновский М.И. Количественные закономерности влияния температуры на скорость энергетического обмена у *Gadus morhua morhua*, *Anahichas lupus* и *Pleuronectes platessa* // Вопр. ихтиологии. 1993. Т. 33, № 1. С. 111–120.
62. Показатели энергетического обмена у молоди атлантического лосося (*Salmo salar* L.), обитающей в главном русле и притоке реки Варзуга (Кольский полуостров) / Павлов Д.С. и др. // Вопросы ихтиологии. 2007. Т. 47, № 6. С. 819–826.
63. Чекунова В.И. Скорость и уровень обмена у рыб разных экологических групп // Вопр. ихтиологии. 1974. Т. 14, вып. 2 (85). С. 312–319.
64. Дерун А., Федоненко О. Порівняльна характеристика деяких біохімічних показників тканин та органів плітки і карася Запорізького водосховища // Шевченківська весна: Матеріали міжнарод. наук-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених. Вип. V, ч. I.: Київ, 2007. С. 23–24.
65. Мехед О.Б., Яковенко Б.В., Жиденко А.О. Вплив зенкору на вміст глюкози та активність ферментів глюконеогенезу у тканинах коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) за різних температур // Укр. біохім. журн. 2004. Т. 76, № 3. С. 110–113.
66. Physiological correlates of seasonal growth patterns in lake trout *Salvelinus namaycush* / Morbey Y. E. [et al.] // Journal of Fish Biology. 2010. Vol. 77. P. 2298–2314.

67. Голованов В.К., Смирнов В.К. Влияние скорости нагрева на термоустойчивость карпа *Cyprinus carpio* в различные сезоны года // Вопр. ихтиологии. 2007. Т. 47, № 4. С. 555–561.
68. Cossins A.R., Bowler K. Temperature biology of animals. London: Chapman and Hall., 1987.
69. Atkinson D.E. Cellular energy metabolism and its regulation. New York: Plenum Press, 1977. 235 p.
70. *Alternaria alternata* serin proteases induce lung inflammation and airway epithelial cell activation via PAR2 / Boitano S [et al.] // Am. J. Physiol. Lung cell Mol. Physiol. 2011. Vol. 300(4). P. 605-614.
71. Moyes C.D., Genge C.E. Scaling of muscle metabolic enzymes: an historical perspective // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 2010. Vol. 156. P. 344–350.
72. Richards J.G., Farrell A.P., Brauner C.J. Metabolic and Molecular Responses of Fish to Hypoxia // Fish Physiology. 2009. Vol. 27. P. 443–485.
73. States of succinate dehydrogenase in the organism: Dormant vs. hyperactive (pushed out of equilibrium) / Kondrashova M.N [et al.] // Biophysics. 2013. Vol. 58. № 1. P. 86-94.
74. Енергозабезпечення тканин зябер та печінки риб за дії йонів цинку та кадмію / Сенік Ю.І. та ін. // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. С: Біологія. 2012. № 4, (53). С. 115–121.
75. Farbridge K.J., Leatherland J.F. Temporal changes in plasma thyroid hormone, growth hormone and free fatty acid concentrations, and hepatic 5'-monodeiodinase activity, lipid and protein content during chronic fasting and refeeding in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Fish Physiol Biochem. 1992. Vol. 10. P. 245–257.
76. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М.: Мир, 1982. Т.1. 390 с.
77. Чурова М. В., Шульгина Н. С., Немова Н. Н. Активность ферментов энергетического и углеводного обмена у молоди лосося разных возрастных групп из реки золотица (архангельская область) // Труды Карельского научного центра РАН. 2018. № 4. С. 136–144.

78. Кубасов А.А. Почему катализатор ускоряет химические реакции // Соросовский образовательный журнал. 2001. №7. С.59-66.
79. Миронюк М.О., Арсан О.М. Влияние нефтепродуктов на активность сукцинатдегидрогеназы тканей карпа // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Материалы 2-й научной конференции с участием стран СНГ, 11-14 сент. 2007 г.: Петрозаводск, 2007. С. 98 – 99.
80. Панченков Г.М. Лебедев В.П. Химическая кинетика и катализ. Москва: Химия, 1985. 592 с.
81. Шеховцова Т.Н. Ферменты: их использование в химическом анализе // Соросовский образовательный журнал. 2000. №6. С. 44–48.
82. Lactate Dehydrogenase and Na⁺/K⁺ ATPase Activity in *Leiostomus xanthurus* (Spot) in Response to Hypoxia. Explorations / Brinson B. E. [et al.] // Biological, Earth, and Physical Sciences. 2007. P. 22–29.
83. Мещерякова О.В. Динамика активности изоформ лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и глицерфосфатдегидрогеназы в процессе адаптации рыб к различным факторам окружающей среды: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: спец. 03.00.12 «Биохимия». Петрозаводск, 2004. 22 с.
84. Detection of Necrosis by Release of Lactate Dehydrogenase Activity / Chan F. [et al.] // Methods in molecular biology. 2013. Vol. 979. P. 65–70.
85. Активність лактатдегідрогенази у деяких видів риб з різних популяцій / Зінковський О.Г. та ін. // Наукові зап. Терноп. Нац. У-ту ім. В.Гнатюка. С: Біологія. 2011. Вип. 2 (47). С. 182-186.
86. Lactate dehydrogenase activity - an effective parameter in aquatic toxicity tests / Diamantino T.C. [et al.] // Chemosphere. 2001. Vol. 45. P. 53–560.
87. Varadarajan R. Biochemical effects of different phenolic compounds on *oreochromis mosambicus* (Peters). Doctor of philosophy in biochemistry: Cochin-682016 // Indis. 2010. 250 p.
88. Panepuca M.N., Fernandes J.R., Sanches F.T. Changes in lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase activities during hypoxia and after

- temperature acclimation in the armored fish *Rhinelepis strigosa* (siluriformes, loricaridae) // Rantin. Rev. Brasil. Biol. 2000. Vol. 60, № 2. P. 353–360.
89. Regulation of Lactate Dehydrogenase in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Gills during Acclimation to alinity / Tseng Y.C. [et al.] // Challenge Zoological Studies. 2008. Vol. 47, № 4. P. 473–480.
90. Hypoxic responses of Na⁺/K⁺ ATPase in trout hepatocytes / Bogdanova A.B. [et al.] // J. Exp. Biol. 2005. Vol. 208. P. 1793–1801.
91. Prychepa M.V., Potrokhov O.S. Physiological-biochemical state of the river perch *Perca fluviatilis* under different conditions of wintering // Hydrobiol. J. 2014. Vol. 50, № 5. P. 71–77.
92. Physiological response in the European flounder (*Platichthys flesus*) to variable salinity and oxygen conditions / Kim L. [et al.] // J. Comp Physiol B. 2008. Vol. 8. P. 909–915.
93. Изменение активности фермента Na/K-АТФазы стерляди (*Acipenser ruthenus*) при изменении солености и кислотности / Кяйвярайнен Е.И. и др. // Инновации в науке и образовании: Мат. VI юбилейной Международной научной конференции: Калининград, 2008. С. 100–101.
94. Зміна активності Na⁺/K⁺-АТФ-ази в ембріонах коропових риб за дії різного температурного та кисневого режиму водойм / Водяніцький О. та ін. // Вісник Львівського університету. 2017. Вип. 75. С. 14-22.
95. Janauer G. A. Aquatic vegetation in river floodplains: climate change effects, river restoration and ecohydrology aspects // Climate Change. Inferences from Paleoclimate and Regional Aspects. 2012. P. 149–156
96. Sakamoto T., S.M. McCormick. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation // Gen. Comp. Endocrinol. 2006. Vol. 147, № 1. P. 24–30.
97. Little A.G. Thyroid hormone actions are temperature-specific and regulate thermal acclimation in zebrafish (*Danio rerio*) // BMC Biology. 2013. P. 15.
98. McCormick S.D. The hormonal control of osmoregulation in teleost fish // Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment, San Diego: Academic Press. 2011. Vol. 2. P. 1466–1473.

99. Причепа М. В., Потрохов О. С. Вміст деяких гормонів у плазмі крові окуня та судака різних популяцій // Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах: матеріали VII Міжнародної наукової конференції. Дніпропетровськ: Адверта, 2013. С. 109-111.
100. Причепа М.В. Активність лактатдегідрогенази та загальної АТФ-ази як показники екологічної пластичності окуневих риб в умовах погіршення кисневих умов // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: мат. міжнар. наук-практ. дистанційної конференції. Дніпропетровськ: 2014. С. 74–75.
101. Brain Na^+/K^+ -ATPase activity in two anoxia tolerant vertebrates: Crucian carp and freshwater turtle / Hylland S. [et al] // *Neurosci. Dev.* 1997. Vol. 73. P. 117–123.
102. Begum G. Organspecific ATPase and phosphorylase enzyme activities in a food fish exposed to a carbamate insecticide and recovery response // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2011. Vol. 37, № 1. P. 61– 69.
103. Haya K., Waiwood B.A. Adenylate energy charge and ATPase activity. Potential biochemical indicators of sublethal effects caused by pollutants in aquatic animals in: Nriagu Jo (ed) // *Aquatic Toxicology*. 1983. Vol. 13. P. 525–529.
104. Alam M. Gill ATPase of silver perch *Bidyanus bidyanus*, and golden perch *Macquaria amhiqua*: effects of environmental salt and ammonia // *Aquaquilture*. 2006. Vol. 151. P. 118–133.
105. Afsar S., Govind B., Jaiswa D.P. $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase post exposure recovery from Lead intoxicated freshwater fish *Anabas testudineus* // *Journal of Experimental Sciences*. 2012. V.3, № 8. P.01–03.
106. Иванская Н.Н., Антонеева И.И. Активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в печени крыс при острой циркуляторной гипоксии // *Фундаментальные исследования*. 2004. № 4. С. 67-68.
107. Bouchard P., Guderley H. Time course of the response of mitochondria from oxidative muscle during thermal acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *J. Exp. Biol.* 2003. Vol. 206 (19). P. 3455–3465.

108. Carr H. S., Winge D. R. Assembly of cytochrome c oxidase within the mitochondrion // *Acc. Chem. Res.* 2003. Vol. 36. P. 309–316.
109. Molecular evolution of cytochrome c oxidase in high performance fish (teleostei: Scombroidei) / Dalziel A. C. [et al.] // *J. Mol. Evol.* 2006. Vol. 62, N 3. P. 319–331.
110. Mitochondrial energy metabolism is regulated via nuclear coded subunits of cytochrome c oxidase / Kadenbach B. [et al.] // *Free Radical Biology & Medicine.* 2000. Vol. 29. P. 211–221.
111. Mitochondrial proliferation in the permanent vs. temporary cold: enzyme activities and mRNA levels in Antarctic and temperate zoarcid fish / Lucassen M. [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2003. Vol. 285. P. 1410–1420.
112. O'Brien K. M. Mitochondrial biogenesis in cold bodied fishes // *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 275–285.
113. Coordination of cytochrome c oxidase gene expression in the remodelling of skeletal muscle / Duggan A. T. [et al.] // *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1880–1887.
114. Goolish E. M. Aerobic and anaerobic scaling in fish // *Biological Reviews.* 1991. Vol. 66. P. 33–56.
115. Forgan L. G., Forster M. E. Oxygen dependence of metabolism and cellular adaptation in vertebrate muscles: a review // *J. Comp. Physiol. B.* 2012. Vol. 182, N 2. P. 177–188.
116. Speers Roesch B., Ballantyne J. S. Activities of antioxidant enzymes and cytochrome c oxidase in liver of Arctic and temperate teleosts // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2005. Vol. 140, N 4. P. 487–494.
117. Isolation and characterization of cytochrome c oxidase from bird and fish heart mitochondria / Montecucco C. [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. B.* 1987. Vol. 87, N 4. P. 851–856.
118. Meshcheryakova O. V., Churova M. V., Nemova N. N. Mitochondrial lactate oxidation: mechanism and importance at the temperature adaptation // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 2012. Vol. 163, N 1. P. 5–6.

119. Johnston I.A., Battram J. Feeding energetics and metabolism in demersal fish species from Antarctic, temperate and tropical environments // *Mar. Biol.* 1993. Vol. 115. P. 7-14.
120. Effect of Nucleotide on Growth, Immune Responses and Resistance of *Labeo Rohita* to *Aeromonas Hydrophila* Infection / Baidya, S. [et al.] // *J Aquac Mar Biol.* 2015. N.2. P. 37.
121. Озернюк Н.Д. Экологическая энергетика животных. М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2006. 167 с.
122. Скулачев В.П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. М.: АН СРСР, 1962. 156 с.
123. Орлова О.А. Лазарчук О.О. Вплив парафармацевтика «Він-Віта» на стан енергетичного обміну в дорослих щурів // *Український медичний альманах.* 2009. Том 12, № 5. С. 124–128.
124. Buentello A., Gatling D.M. Dietary nucleotides influence immune responses and intestinal morphology of red drum *Sciaenops ocellatus* // *Fish shellfish immune.* 2011. №.1. P. 143-147.
125. Винберг Г.Г. Температурный коэффициент Вант-Гоффа и уравнение Аррениуса в биологии // *Журн. общей биологии.* 1983. Т. 44, № 1. С. 31-42.
126. Do Huu H. Overview of the application of nucleotide in aquaculture // *Journal of coastal life medicine.* 2016. №.4. P. 816-823.
127. The growth-promoting effect of dietary nucleotides in fish is associated with an intestinal microbiota-mediated reduction in energy expenditure / Guo X. [et al.] // *Journal of nutrition.* 2017. №. 147. P. 781-788.
128. The metabolic fate of amino acids. Mammalian Protein Metabolism / Krebs H.A. [et al.] // *New York: Academic Press.* 1964. Vol. 1. P. 125-176.
129. Effects of dietary nucleotide yeast on immune responses and antioxidant enzyme activities of rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*) / Hunt A. [et al.] // *Israeli journal of aquaculture.* 2016. №. 68. P. 1-12.
130. Wodtke E. Temperature adaptation of biological membranes. Compensation of the molar activity of cytochrome c oxidase in the mitochondrial energy transducing

membrane during thermal acclimation of the carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Biochim. Biophys. Acta*. 1981. Vol. 640, № 3. P. 710–720.

131. Enders E. C., Boisclair D. Effects of environmental fluctuations on fish metabolism: Atlantic salmon *Salmo salar* as a case study // *Journal of Fish Biology*. 2016. №. 88. P. 344– 358.

132. Russell D. Vetter, Robert E. Hodson. Energy Metabolism in a Rapidly Developing Marine Fish Egg, the Red Drum (*Sciaenops ocellata*) // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1983. №. 40(5). P. 627-634.

133. Jørgensen, C., Enberg, K. & Mangel, M. Modelling and interpreting fish bioenergetics – a role for behaviour, life history traits, and survival trade-offs // *Journal of Fish Biology*. 2016. №. 88. P. 389– 402.

134. Measurements of intracellular ATP provide new insight into the regulation of glycolysis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* / Ytting C.K. [et al.] // *Integr Biol (Camb)*. 2012. №.4. P. 99–107.

135. Synchronized ATP oscillations have a critical role in prechondrogenic condensation during chondrogenesis / Kwon H.J. [et al.] // *Cell Death Dis*. 2012. №3. P. 278.

136. Glycolytic oscillations in isolated rabbit ventricular myocytes / Yang J.H. [et al.] // *J Biol Chem*. 2008. №. 283. P. 36321–36327.

137. Mitochondrial calcium signaling mediates rhythmic extracellular ATP accumulation in suprachiasmatic nucleus astrocytes / Burkeen J.F. [et al.] // *J. Neurosci*. 2011. №. 31. P. 8432–8440.

138. De la Fuente I.M. Quantitative analysis of cellular metabolic dissipative, self-organized structures // *J. Mol. Sci*. 2010. №. 11. P. 3540–3599.

139. Regulation of mitochondrial respiratory chain biogenesis by estrogens/estrogen receptors and physiological, pathological and pharmacological implications / Chen J.Q. [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta* 2009. Vol. 1793. P. 1540–1570.

140. White C. R., Alton L. A., Frappell P. B. Metabolic cold adaptation in fishes occurs at the level of whole animal, mitochondria and enzyme // *Proc. Biol. Sci*. 2012. Vol. 279, N 1734. P.1740–1747.

141. Weitzel J. M., Iwen K. A. H., Seitz H. J. Regulation of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone // *Exp. Physiol.* 2003. Vol. 88. P. 121–128.
142. Effects of cortisol and thyroid hormone on peripheral outer ring deiodination and osmoregulatory parameters in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) / Arjona F.J. [et al.] // *J. Endocrinol.* 2011. Vol. 208. P. 323–330.
143. Oliveira M., Pacheco M., Santos M.A. Fish thyroidal and stress responses in contamination monitoring – an integrated biomarker approach // *Ecotoxicol. Environ. Sci.* 2011. Vol. 74, № 5. P. 1265–1270.
144. Wang C., King W.V., Curry Woods L. Physiological indicators of divergent stressresponsiveness in male striped bass broodstock // *Aquaculture* 2004. Vol. 232. P. 665–678.
145. Sheridan M. A. Effects of thyroxine, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1986. Vol. 64. P. 220–238.
146. Metabolic and thyroidal response in air-breathing perch (*Anubus testudineus*) to water-borne kerosene / Peter V.S. [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2007. Vol. 152. P. 198–205.
147. Ramesh M., Saravanan M., Kavitha C. Hormonal responses of the fish, *Cyprinus carpio*, to environmental lead exposure // *Afr. J Biotechnol.* 2009. Vol.8. P. 4154–4158.
148. Martínez-Porchas M., Martínez-Córdova L.R., Ramos-Enriquez R. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? // *Pan-American Journal of Aquatic Sciences.* 2009. Vol. 4, № 2. P. 158–178.
149. Vijayan M. M., Flett P.A., Leatherland J.F. Effect of cortisol on the in vitro hepatic conversion of thyroxine to triiodothyronine in brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill) // *Gen and Comp. Endocrinol.* 1988. Vol. 70. P. 312–318.
150. Cortisol response and immunerelated effects of Atlantic Salmon (*Salmo salar* Linnaeus) subjected to short- and long-term stress / Fast M.D. [et al.] // *Fish and Shellfish Immunol.* 2008. Vol. 24. P. 194–204.

151. Hopkins T.E., Wood C.D., Walsh P.J. Interactions of cortisol and nitrogen metabolism in the ureogenic gulf toadfish *Opsanus beta* // J.Exper.Biol. 1995. Vol. 198. P. 2229–2235.
152. Disentangling the effects of environment and life history stage on corticosterone modulation in Costa Rican rufous-collared sparrows, *Zonotrichia capensis costaricensis* / Busch D.S. [et al.] // Physiol. Biochem. Zool. 2010. Vol. 83. P. 87–96.
153. Gagnon A., Jumarie C., Hontela A. Effects of Cu on plasma cortisol and cortisol secretion by adrenocortical cells of rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* //Aquat.Toxicol. 2006. Vol. 78. P. 59–65.
154. Norris D.O., Hobbs S.L. The HPA axis and functions of corticosteroids in fishes // Fish Endocrinology. Enfield, NH, USA. Science Publishers. 2006. P. 721–765.
155. Jentoft S., Aastveit A.H., Torjesen P.A. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Comparative Biochemistry and Physiology. 2005. Vol. 141. P.353–358.
156. Prychepa M.V., Potrokhov O.S. Hormonal regulation of adaptative processes in fishes to impact of abiotic factors // Hydrobiol. J. 2016. Vol. 52, № 1. P. 86–98.
157. Shankar D.S., Sudarashan S.S., Kulkarni R.S. Role of cortisol on condition factor in the female freshwater fish, *Notopterus notopterus* during four reproductive phases // Journal of Environmental Biology. 2007. Vol. 28, № 2. P.275–278.
158. Metabolic effects of thyroid hormone derivatives / Moreno M. [et al.] // Thyroid. 2008. Vol. 18. P. 239–253.
159. Peter M. C. The role of thyroid hormones in stress response of fish // Gen. Comp. Endocrinol. 2011. Vol. 172, № 2. P. 198–210.
160. Silva J. E. Thyroid hormone control of thermogenesis and energy balance // Thyroid. 1995. Vol. 5. P. 481–492.

161. Thyroid hormone modifies the metabolic response of air-breathing perch (*Anabas testudineus* Bloch) to nimbecidine exposure / Peter M. C. S. [et al.] // *J Endocrinol Reprod* 13. 2009. Vol. 1. P. 27–36.
162. Effects of thyroid hormone on mitochondrial oxidative phosphorylation / Verhoeven A. J. [et al.] // *J. Biochem.* 1985. Vol. 226, №. 1. P. 183–192.
163. Болотовский А.А., Левин В.А. Сезонная изменчивость уровня трийодтиронина у трех видов карповых рыб из Рыбинского водохранилища, бассейн Волги // *Всерос. конф. с международным участием: тези доп. Борок*, 2012. С. 54–57.
164. Carr J.A., Patiño R. The hypothalamus-pituitary-thyroid axis in teleosts and amphibians: endocrine disruption and its consequences to natural populations // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2011. V.170, N2. P.299-312.
165. Corticotropin-Releasing Factor Neurogenesis during Midlife Development in Salmon: Genetic, Environmental and Thyroid Hormone Regulation / Ebbesson L.O.E. [et al.] // *Journal of Neuroendocrinology*. 2011. V.23. P.733–741.
166. Thyroid Hormone Activates Protein Arginine Methyltransferase 1 Expression by Directly Inducing c-Myc Transcription during *Xenopus* Intestinal Stem Cell Development / Fujimoto K. [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. 2012. V.287. P.10039-10050.
167. Grim J. M., Miles D. R. B., Crockett E. L. Temperature acclimation alters oxidative capacities and composition of membrane lipids without influencing activities of enzymatic antioxidants or susceptibility to lipid peroxidation in fish muscle // *The Journal of Experimental Biology*. 2010. №. 213. P.445-452.
168. Itoh K., Watanabe K., Wu X. Three members of the iodothyronine deiodinase family, dio1, dio2 and dio3, are expressed in spatially and temporally specific patterns during metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus* // *Zoolog. Sci.* 2010. V.27, N7. P.574-580.
169. Regulation of thyroid hormone related genes mRNA expression by exogenous T3 in larvae and adult Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) / Li W. [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2011. V.31, N.1. P.189-197.

170. Peter V.S., Peter M.C. The interruption of thyroid and interrenal and the inter-hormonal interference in fish: does it promote physiologic adaptation or maladaptation? // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2011. V.174, N3. P. 249-258.
171. 3,5-Diiodothyronine in vivo maintains euthyroidal expression of type 2 iodothyronine deiodinase, growth hormone, and thyroid hormone receptor beta 1 in the killifish / Garcia-G C. [et al.] // *J. Physiol-Reg.* 2007. Vol. 293. P. 877–883.
172. Bakthavathsalam R Changes in the content of glycogen and its metabolites during acute exposure of *Anabas testudineus* (Bloch) to furadan / R. Bakthavathsalam, Y.Srinivasareddt // *J. Biosci.* 1982. Vol. 4(1). P. 19–24.
173. Carvalho C.S., Fernandes M.N. Effect of copper on liver key enzymes of anaerobic glucose metabolism from freshwater tropical fish *Prochilodus lineatus* // *Comp. Biochem. Physiol.* 2008. Vol. 151.A. P. 437–442.
174. Cicik B., Engin K. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) // *Turk J. vet.* 2005. Vol.29. P.113–117.
175. Ranbhare V.S., Bakare R.V. Effect of heavy metal pollution on fresh water fishes // *Department of environmental Sci.* 2012. P. 170-172.
176. Padmavathy P., Ramanathan N. Quantitative changes of glycogen and lactin in muscle, blood and liver tissues of *oreochromis mossambicus* under hypoxia and recovery // *J. Veterinary Animal Sci.* 2010. Vol. 6, № 2. P. 54–59.
177. Roach P. J. Glycogen synthase and glycogen synthase kinases // *Curr. Top. Cell. Regul.* 1981. N 20. P. 45–105.
178. Hems D. A., Whitton P. D. Control of hepatic glycogenolysis // *Physiol. Rev.* 1980. N 60. P. 1–50.
179. Teerijoki H. Fish glucose transporters: molecular cloning and functional characterization // *C. Natural and Environmental Sciences.* 2002. Vol. 140. P. 75.
180. Agius L. Role of glycogen phosphorylase in liver glycogen metabolism // *Mol. Aspect Med.* 2015. Vol. 46. P. 34–45.

181. Bolinger M. T., Rodnick K. J. Differential effects of temperature and glucose on glycogenolytic enzymes in tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. Physiol.* 2014. Vol. 171. P. 26–33.
182. FXD11 mediated modulation of Na⁺/K⁺-ATPase activity in gills of the brackish medaka (*Oryzias dancena*) when transferred to hypoosmotic or hyperosmotic environments / Chang C. *Comp [et al.] // Biochem. Physiol.* 2016. Vol. 194. P. 19–26
183. Hypothermal stress induced differential expression profiles of the immune response gene, warm-temperature-acclimation associated 65-kDa protein (Wap65), in the liver of fresh water and seawater milkfish, *Chanos chanos* / Chang C. H. [et al.] // *Fish Shellfish Immunol.* 2017. Vol. 70. P. 174–184
184. Huang C. Y., Lin H. C., Lin C. H. Effects of hypoxia on ionic regulation, glycogen utilization and antioxidative ability in the gills and liver of the aquatic air-breathing fish *Trichogaster microlepis* // *Comp. Biochem. Physiol.* 2015. Vol. 179. P. 25–34.
185. The acute and regulatory phases of time-course changes in gill mitochondria-rich cells of seawater-acclimated medaka (*Oryzias dancena*) when exposed to hypoosmotic environments / Kang C. K. [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol.* 2013. Vol. 164. P. 181–191.
186. Changes of glycogen metabolism in the gills and hepatic tissue of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during short-term Cd exposure / Lin Y. S. [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol.* 2011. Vol. 154. P. 296–304.
187. Varis J., Haverinen J., Vornanen M. Lowering temperature is the trigger for glycogen build-up and winter fasting in crucian carp (*Carassius carassius*) // *Zoolog. Sci.* 2016. N. 33. P. 83–91.
188. Mushigeri S.B., Kuri R.C. Blood glucose and glycogen levels as indicators of stress in the freshwater // *Journal of ecotoxicology and environmental monitoring.* 2005. Vol. 15. P. 1–5.

189. Padmavathy P., Ramanathan N. Quantitative changes of glycogen and lactic acid in muscle, blood and liver tissues of *Oreochromis mossambicus* under hypoxia and recovery // J. Veterinary Animal Sci. 2010. Vol. 6, № 2. P. 54–59.
190. Юришинець В.І. Структура симбіоценозу гідробіонтів як показник екологічного стану водних об'єктів урбанізованих територій // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер.: Біол. 2015. №3–4 (64). С. 764–767.
191. Прокопчук М.С., Погорєлова Ю.В. Сезонна динаміка біогенних речовин у водоймах міста Києва // Вісник запорізького національного університету. 2017. №1. С. 161-169.
192. Гідрохімічна та мікробіологічна характеристика оз. Бабиного, розташованого в межах м. Києві / Якушин В.М. та ін. // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер.: Біол. 2015. №3–4 (64). С. 776–779.
193. Кульский Л.А. Справочник по свойствам, методам анализа и очистки воды. В 2-ух частях. К.: Наукова думка, 1980. 1206 с.
194. Зарубина И.В., Криворучко Б.И. Разделение и прямое количественное определение адениннуклеотидов на силуфоле // Укр. био- хим. журнал. 1982. №4. С. 437-439.
195. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. М.: Наука, 1965. 544 с.
196. Осадчая Л. М. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. 272 с.
197. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии, под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С. 47–49.
198. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Lowry J.O.H. [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol.193, № 1. P. 265–275.
199. Марценюк В.М. Гормональна відповідь коропа звичайного та окуня річкового на дію підвищеної температури води // Тернопільські біологічні читання: матеріали всеукр. наук.-практ. конф. Тернопіль, 2017. С. 136–139.

200. Ананьева Т.В., Федоненко О.В. Біохімічні показники тканин і органів окуня (*Perca fluviatilis* L.) Запорізького водосховища // Питання біоіндикації та екології. 2010. Вип. 15, № 2. С. 223–231.
201. Regulation of glucogen metabolism in gill and liver of the euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acclimation to seawater / Chang J.C. [et al.] // J.Exp.Biol. 2007. Vol. 210. P. 3494–3504.
202. Parvez S., Sayeed L., Raisuddin S. Decreased gill ATPase activities in the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) exposed to a diluted paper mill effluent // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2006. Vol. 65. P. 62–66.
203. Роль Na^+/K^+ АТФазы в биохимических механизмах адаптаций к абиотическим и биотическим факторам среды / Кяйвярйнен Е. И. и др. // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Экологическая физиология и биохимия водных организмов: мат. III междунар. конф. Петрозаводск, 2010. С. 115–120.
204. Kraffe E., Marty Y., Guderley H. Changes in mitochondrial oxidative capacity during thermal acclimation of rainbow trout: roles of membrane proteins, phospholipids and its fatty acide composition // J. Exper. Biology. 2007. Vol. 210. P. 149–165.
205. Navarro A. Mitochondrial enzyme activities as biochemical markers of aging // Mol. Aspects Med. 2004. Vol. 25, N 1–2. P. 37–48.
206. Becker C.D., Genoway R.G. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish // Environ. Biol. Fish. 1979. Vol. 4, № 3. P. 245–256.
207. Smirnov A.K., Golovanov V.K. Raspredelenie rechnogo okunja *Perca fluviatilis* L. v termogradientnyh uslovijah v zavisimosti ot mestopolozhenija korma // Vopr. rybolovstva. 2011. T. 12, № 4(48). S. 730–740.
208. Белокопытин Ю.С. Биоэнергетика и суточные ритмы двигательной активности морских рыб. Биоэнергетика гидробионтов. Киев: Наукова думка, 1990. С. 149-160.

209. Sachar A., Raina S. Effect of Inorganic Pollutant (Nitrate) On Biochemical Parameters of the Fish, *Aspidoparia Morar* // International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology. 2014. Vol. 3, № 5. P. 12568–12573.
210. Regulation of muscle glycogenolytic flux during intense aerobic exercise after caffeine ingestion / Chesley A. [et al.] // J. Physiol Regul Integr Comp Physiol. 1998. Vol. 275. P. 596–603.
211. Gruetter R. Glycogen: the forgotten cerebral energy store / J. Neurosci Res. 2003. Vol. 74. P. 179–183.
212. Янович Н. Є., Янович Д. О. Роль мікроелементів у життєдіяльності ставкових риб // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького. 2014. Т.16. № 2 (59). С 345–373.
213. Martemyanov V.I., Mavrin A.S. Threshold environmental concentrations of cations defining the range of roach *Rutilus rutilus* L. in freshwater reservoirs // Inland Water Biology. 2012. V. 5, № 1. P. 91–95.
214. 5. Вміст тиреоїдних гормонів, кортизолу та глюкози у плазмі крові як показники видоспецифічної біохімічної відповіді риб на дію підвищеної мінералізації води / Марценюк В. М. та ін. // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2017. № 4. С. 71–77.
215. Смирнов А.К., Голованов В.К. Распределение речного окуня *Perca fluviatilis* L. в термоградиентных условиях в зависимости от местоположения корма // Вопр. рыболовства. 2011. Т. 12, № 4(48). С. 730–740.
216. Болдырев А. А. Na^+/K^+ -АТФаза. Свойства и биологическая роль // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 4. С. 2–10.
217. Interaction of ATP with the phosphoenzyme of the Na^+,K^+ -ATPase / Khalid M. [et al.] // Biochem. 2010. Vol. 49, № 6. P. 1248–1258.
218. Nucleotide activation of the Ca-ATPase / Autry J. M. [et al.] // J. Biol. Chem. 2012. Vol. 287, № 46. P. 39070–39082.

219. Гончарова Н. В., Евстигнеев В. Б. Электронное строение фосфатов в связи с проблемой синтеза и использования АТФ // Биофизика. 1979. Т. 24, № 1. С. 9-14.
220. Energy metabolism in eukaryotes biochemistry and evolution of anaerobic / Müller M. [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2012. Vol. 76, № 2. P. 444–495.
221. Фердман Д. Л. Биохимия адениловых кислот // Укр. біохім. журнал. 1963. Т. 35, № 1. С. 129-152.
222. Immunocytochemical localization of glycogen phosphorylase isozymes in rat nervous tissues by using isozyme-specific antibodies / Pfeiffer-Guglielmi B. [et al.] // J Neurochem. 2003. Vol. 85. P. 73–81.
223. Kirschner L.B. Energetics aspects of osmoregulation in fresh water vertebrates // J Exp Zool. 1995. Vol. 271. P. 243–252.
224. Щербак В.И., Семенюк Н.Е. Использование фитопланктона для оценки экологического состояния водоемов мегаполиса согласно водной рамочной директиве ЕС 2000/60 // Гидробиол. журн. 2008. Т.44 (6). С. 29–41.
225. Фізіолого-біохімічний статус окуня річкового (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) та плітки звичайної (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) в умовах надмірного антропогенного навантаження на водойму / Марценюк В. М. та ін. // Рибогосподарська наука України. 2017. Т.42, №4. С. 99–111.
226. Грубінко В.В. Інтегральна оцінка токсичного ураження у біологічних системах // Наук. записки Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер.: Біол. 2005. № 3. С. 111–114.
227. Грубінко В.В. Системна оцінка метаболічних адаптацій у гідробіонтів // Наук. записки Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер.: Біол. 2005. № 2. С. 36–39.
228. Курант В.З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра біол. наук: спец. 03.00.10 «Іхтіологія». Київ, 2003. 38 с.
229. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зінковський О.Г. Адаптивна біохімічна відповідь коропа та окуня на дію підвищеного температурного

- режиму води // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2017. № 1. С. 83–89.
230. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Фізіолого-біохімічні особливості пристосування окуня річкового та коропа звичайного до дії підвищеної температури води // Гідробіологічний журнал. 2017. Т.53, №4. С. 66–75.
231. Марценюк В. М., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Особливості енергозабезпечення тканин коропа звичайного (*Cyprinus carpio* L.) за дії підвищеної температури води // Науковий вісник НУБІП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2017. №270. С. 114–127.
232. Martseniuk V. M., Potrokhov O. S., Zinkovskiy O. G. Energy Metabolism in Organs and Tissues of Perch *Perca fluviatilis* under Changes of Water Temperature // *Hydrob. J.* 2018. Vol. 54, 4. P. 85–94.
233. Марценюк В.М. Життестійкість коропа звичайного за дії підвищеної температури води // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: матеріали III наук.-практ. конф. для молодих вчених, м. Київ, 6–7 жовт. 2016 р. Київ, 2016. С. 20–23.
234. Марценюк В.М. Активність аденозинтрифосфатази як показник адаптивної відповіді риб на дію підвищеної температури води // Біологічні дослідження 2017: матеріали III всеукр. наук.-практ. конф., м. Житомир, 14–16 березня 2017 р. Житомир, 2017. С. 132–133.
235. Марценюк В.М. Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах окуня річкового *Perca fluviatilis* L. за дії підвищеної температури води // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: матеріали IV наук.-практ. конф. для молодих вчених, присвяч. 100-річчю НАНУ, м. Київ, 6–7 листопада. 2017 р. Київ, 2017. С. 41–43.
236. Марценюк В.М. Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах коропа *Cyprinus carpio* L. за дії підвищеної температури води // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 19–21 вересня 2017 р. Київ, 2017. С. 208–213.

237. Марценюк В.М. Гормональний статус окуня річкового та плітки звичайної за умов надмірного антропогенного навантаження на водойму // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпро, 12–15 вересня 2017 р. Дніпро, 2017. С. 61–64.