

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Водяніцький Олександр Михайлович

УДК 591.3:597.55.2 (574.2:577.151)

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
ЕМБРІОГЕНЕЗУ РИБ ПРИ РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВАХ
ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА**

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

_____ О.М. Водяніцький
(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 – 2018

АНОТАЦІЯ

Водяніцький О.М. Морфологічні та цитогенетичні особливості ембріогенезу риб при різних екологічних умовах водного середовища. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.10 «Іхтіологія». – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2018.

На підставі оцінки морфологічної, цитологічної, фізіологічної та біохімічної реакції ембріонів та личинок коропових і окуневих риб обґрунтовані безпечні рівні змін екологічних чинників у природних водоймах в умовах підвищення температури води на нерестовищах. За впливу нетипових та різких коливань абіотичних чинників водного середовища змінюються темпи ембріонального розвитку аборигенних видів риб. Підвищення температури води призводить до зменшення маси та довжини личинок риб, які зазнавали дії чинника протягом всього ембріонального розвитку. Це свідчить про надмірну утилізацію запасних речовин під час ембріонального розвитку за підвищення температури води.

Показано, що абіотичні чинники спричиняють потужний тератогенний ефект на ембріони та личинок риб. За різких коливань температури води та вмісту розчиненого кисню спостерігається поява аномальних передличинок у різних видів риб, кількість яких може досягати 82%. При цьому для ембріонів характерна одночасно наявність декількох аномалій, зокрема викривлення хребта та водянки внутрішніх органів. Також при перевищенні температури води за 26–28°C та відповідно при зниженні концентрації кисню у воді на пізніх стадіях розвитку ембріонів та у личинок риб відбувається збільшення середньої кількості мікроядер у клітинах.

Встановлено основні закономірності змін величин загально-біохімічних показників ембріонів та личинок окуневих та коропових видів риб. Визначено

активність ферментів енергетичного та пластичного обміну у них при надмірній температурі води та зниженій концентрації розчиненого кисню. При зростанні температури води вище оптимуму та зниженні концентрації розчиненого кисню істотно зменшується активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази в ембріонах риб, що свідчить про зниження рівня обмінних процесів між зовнішнім для зародків та їх внутрішнім середовищем. За цих умов в ембріонах риб істотно зростає активність ЛДГ. Отже, зародки риб активно використовують гліколіз для підтримки свого енергетичного балансу.

Науково обґрунтовано оптимальні рівні температури води для нормального ембріонального розвитку риб, а саме: для коропа – 20–24°C, білого товстолобика – 25–28°C, білого амура – 21–29°C, йоржа – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плітки – 15–17°C. Ці оптимальні для ембріогенезу риб температури можливі лише при достатній концентрації розчиненого кисню у воді (не нижче 5 мг/дм³). При зниженій концентрації кисню у воді оптимум температури зменшується.

За отриманими результатами можна обґрунтувати безпечні для ембріонального розвитку риб зміни екологічних чинників водного середовища. На підставі проведених досліджень можна оцінити ефективність нересту риб на нерестовищах та дати прогноз про рибопродуктивність природних водойм на наступні роки. Визначені оптимальні рівні температури води та її коливання, вмісту розчиненого кисню можна застосовувати при відтворенні аборигенних видів риб в штучних умовах.

Рекомендовано використання таких показників, як кількість мікроядер в клітинах, ступінь аномального розвитку ембріонів та активність ферментів енергетичного комплексу в ембріонах риб для оцінки якості водного середовища та негативного впливу екологічних чинників.

Отримані дані можуть бути також використані в учбовому процесі при викладанні дисциплін іхтіологічного, фізіологічного, біохімічного та екологічного змісту на факультетах природничого профілю.

Ключові слова: абіотичні чинники, температура води, концентрація розчиненого кисню, ембріони, личинки, ембріопатії, білок, загальні ліпіди, глікоген, активність ЛДГ, СДГ, Na^+ , K^+ -АТФ-ази, протеази.

Список публікацій здобувача:

1. **Водяніцький О.М.**, Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Репродуктивні властивості краснопірки за дії екологічних чинників // Наук. записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. 2015. Вип. 3/4 (64). С. 96–99.
2. **Водяніцький О.М.**, Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Вплив коливань температурного режиму водойми на ембріональний розвиток білого товстолиба // Рибогосподарська наука України. 2015. № 1. С. 96–107;
3. **Водяніцький О.М.**, Прімачов М.Т., Гриневич Н.Є.. Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на виживаність та розвиток корокових риб // Науковий вісник НУБіП України”. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2016. Вип. 234. С. 70–78;
4. **Водяніцький О.М.**, Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Худіаш Ю.М. Вплив коливань температурного та кисневого режимів водойми на вміст білків та глікогену в ембріонах корокових риб // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2016. № 3–4 (67). С. 48–55;
5. **Vodianitskiy O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G. Embryonic and Early Postembryonic Development of Carp and Activity of Enzymes of the Energy and Plastic Metabolism under Impact of Water Temperature Fluctuations // Hydrob. J. 2017. Vol. 53, 1. P. 78–86;
6. **Водяніцький О.М.**, Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Причепа М.В. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФази в ембріонах корокових риб за дії різного температурного та кисневого режиму водойм // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2017. Вип. 75. С. 14–22;
7. **Водяніцький О.М.**, Потрохов О.С., Гриневич Н.Є. Зміна активності ферментів енергетичного обміну ембріонів коропа за дії абіотичних чинників

водного середовища // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. БНАУ. 2016. № 1. С. 9–16;

8. **Водяницький О.М.**, Потрохов О.С., Гриневич Н.Є., Куновський Ю.В., Присяжнюк Н.М., Михальський О.Р. Вплив коливань температурного режиму водойми на вміст білків в ембріонах та передличинках окуня звичайного (*Perca fluviatilis*, L.) // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. БНАУ. 2016. № 2. С. 56–61;

9. **Водяницький О.М.** Вплив температурного режиму водойми на ембріогенез коропа // Актуальні проблеми сучасної гідроекології. Науково-практ. конф. для молодих вчених. Присвячена 95-річчю НАН України. Київ, 2013. С. 14–15;

10. Белошапка Т.В., **Водяницкий А.М.**, Матвиенко Н.Н., Желтоножская Т.Б., Пермякова Н.М. Использование витаминов А и В6, инкапсулированных в полимерные носители, при выращивании мальков чешуйчатого карпа // Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України, Мат. І Всеукр. науково-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, 8–9 жовтня 2014 року, м. Дніпропетровськ, Україна. Дніпропетровськ, 2014. С. 111–113;

11. **Водяницький О.М.**, Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Ембріональний розвиток коропа та активність ферментів енергетичного та пластичного обміну за дії коливань температурного режиму водойми // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології. Мат. VII Міжнар. іхтіол. науково-практ. конф. Присвячується 140-річчю Херсонського державного аграрного університету. 10-13 вересня 2014 року м. Мелітополь-Бердянськ, Україна. Мелітополь-Бердянськ, 2014. С. 38–42;

12. **Водяницький О.М.** Активність ферментів енергетичного та пластичного обміну ембріонів білого товстолобика за дії коливань температурного та кисневого режиму водойм // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем. Зб. мат. науково-практ. конф., присвяченої

75-річчю заснування Інституту гідробіології НАН У. 2-3 квітня, 2015 р. Київ, 2015. С.16–18;

13. **Водяніцький О.М.** Активність ферменту ЛДГ в ембріонах білого товстолобика залежно від дії різких коливань температурного та кисневого режимів водойми // Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті: тези доповідей міжнар. науково-практ. конф. молодих учених, аспірантів і докторантів «Екологічні проблеми сучасного світу та шляхи їх вирішення», 14–15 травня 2015 р. Біла Церква, 2015. С. 13;

14. **Водяніцький О.М.** Вплив абіотичних чинників водного середовища на ранній ембріогенез риб // Екологічні проблеми України та шляхи їх вирішення: тези доповідей держ. науково-практ. конф., 19 листопада 2015 р. Біла Церква, 2015. С. 26;

15. **Водяніцький О.М.** Активність ферменту СДГ ембріонів білого товстолобика та білого амура за дії коливань температурного та кисневого режиму водойми // Міжнар. науково-практ. конф. молодих вчених, аспірантів і докторантів. “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті”, 19–20 травня 2016 р. Біла Церква. 2016. С. 42–43;

16. **Водяніцький О.М.,** Причеп М.В. Вплив абіотичних чинників на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази під час ембріонального розвитку коропа та білого амура // Науково-практ. конф. молодих вчених «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» 6–7 жовтня 2016 р. Київ. С. 13–15;

17. **Водяніцький О.М.,** Куновський Ю.В. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на кількість білків та глікогену в ембріонах коропа // Держ. науково-практ. конф. "Аграрна наука – виробництву" 17 листопад, Біла Церква. 2016. С. 18–19;

18. Белошапка Т.В., Матвієнко Н.М., **Водяніцький О.М.** Вплив вітамінів А та В 6 на рибницько-біологічні показники цьоголіток коропа кої (*Cuprinus carpio koi*) при впливу стрес факторів // Сучасні проблеми теоретичної і

практичної іхтіології. Мат. ІХ міжнар. іхтіол. науково-практ. конф. Одеський держ. екологічний ун-тет, 14–16 вересня 2016 р. Одеса, 2016. С. 17–19;

19. **Водяницький О.М.**, Потрохов О.С., Зіньковський О.Г. Активність ферментів енергетичного обміну в ембріонах та передличинках плітки за дії різного температурного та кисневого режиму водойми // Мат. II Міжнар. науково-практич. конф. «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем». 12–15 вересня 2017 року, м. Дніпро, Україна. Дніпро, 2017. С. 50–52.

SUMMARY

Vodianitsky O.M. Morpho-physiological and cytogenetic features of embryogenesis of fish under various environmental conditions of the aquatic environment. – Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Thesis for a candidate degree in biological sciences (doctor of philosophy) in specialty 03.00.10 "Ichthyology". – Institute of Hydrobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2018.

Based on the assessment of the morphological, cytological, physiological and biochemical responses of embryos and larvae of carp and perch fish, safe levels of changes in environmental factors in natural reservoirs are grounded in conditions of rising water temperature in spawning grounds. Under the influence of atypical and sharp fluctuations of the abiotic factors of the aquatic environment, the rate of the passage of the embryonic development of aboriginal fish species is changing. The increase in water temperature leads to a decrease in the mass and length of fish larvae, which were subject to the effect of the whole embryonic development. This indicates the excessive utilization of spare substances during embryonic development due to the rise in water temperature.

It is shown that abiotic factors have a powerful teratogenic effect on embryos and larvae of fish. In the case of sharp fluctuations in water temperature and dissolved oxygen content, there is anomalous predilections occurring in different

species of fish, which can reach 82%. At the same time for embryos at the same time characterized by the presence of several anomalies, including distortion of the spine and watery internal organs. Also, with the predominance of water temperatures above 26–28°C, and correspondingly, when the concentration of oxygen in water decreases in the later stages of the development of embryos and in fish larvae, an increase in the average number of micronuclei in the cells.

The basic regularities of changes of general-biochemical indices of embryos and larvae of perch and carp species of fish are established. The activity of energy and plastic enzymes in them at the excessive water temperature and the reduced concentration of dissolved oxygen is determined. With an increase in the water temperature above optimum and a decrease in the concentration of dissolved oxygen, the activity of Na⁺, K⁺ -ATPase in fish embryos significantly decreases, indicating a decrease in the level of metabolic processes between the external for the embryos and their internal environment. When the environmental conditions deteriorate, in particular the increase in water temperature and the decrease in the concentration of dissolved oxygen, the activity of LDH in tissues increases significantly in fish embryos. Consequently, embryos of fish actively use glycolysis to maintain their energy balance.

Scientifically grounded optimal water temperature levels for the normal passage of the embryonic development of fish, namely for carp – 20–24°C, white carp – 25–28°C, grass carp – 21–29°C, ruff – 14–16°C, perch – 9–12°C, roach – 15–17°C. These optimal temperatures for fish embryogenesis are inherent only at a sufficient concentration of dissolved oxygen in water (not less than 5 mg/dm³). At low concentrations of oxygen in water, the optimum temperature decreases.

The obtained results substantiate the levels of changes in environmental factors of the aquatic environment safe for the passage of embryonic development of fish. Based on the conducted research it is possible to estimate the efficiency of spawning of fish in spawning grounds and to provide a forecast of fish productivity of natural reservoirs for subsequent years. The optimal water temperature and fluctuation levels,

and the content of dissolved oxygen can be used for recreation of aboriginal fish species under artificial conditions.

The use of such indicators as the number of micronuclei in cells, the degree of abnormal development of embryos and the activity of enzymes in the energy complex in fish embryos to assess the quality of the water environment and the negative impact of environmental factors is recommended.

The obtained data can also be used in the educational process in teaching disciplines of ichthyologic, physiological, biochemical and ecological content at the faculties of natural science.

Key words: *abiotic factors, water temperature, dissolved oxygen concentration, embryos, larvae, embryopathy, protein, common lipids, glycogen, LDH activity, SAD, Na⁺, K⁺-ATPase, protease.*

Publisher publication list:

1. **Vodianitskyi O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskyi O.G. Reproductive properties of redheads due to environmental factors // Science. notes of the Ternopil. Nation. Ped. un-th them V. Hnatyuk. Sir Biol. 2015. Vol. 3/4 (64). P. 96–99 (in Ukraine).
2. **Vodianitskyi O.M.** Potrokhov O.S., Zinkovskyi O.G. Influence of temperature fluctuations of the reservoir on the embryonic development of white carp // Fishery science of Ukraine. 2015. No. 1. P. 96–107 (in Ukraine).
3. **Vodyanitskyi O.M.**, Primachov M.T., Grinevich N.E. Influence of temperature and oxygen modes of the aquatic environment on survival and development of carp fish // Scientific Bulletin of NUBiP of Ukraine. Series: Biology, Biotechnology, Ecology. 2016. Vol. 234. P. 70–78 (in Ukraine).
4. **Vodyanitskyi O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskyi O.G., Khudiash Y.M. Influence of temperature and oxygen fluctuations of reservoirs on protein and glycogen content in carp embryos // Science zap. Ternopil. Nats. Ped. un-th Sir. Biol. 2016. No. 3–4 (67). P. 48–55(in Ukraine).

5. **Vodianitskiy O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G. Embryonic and Early Postembryonic Development of Carp and activity of enzymes of the energy and plastic metabolism under impact of water temperature fluctuations // *Hydrob. J.* – 2017. Vol. 53, 1. P. 78–86;
6. **Vodianitskiy O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G., Prichepa M.V. Change in the activity of Na^+ / K^+ -ATPase in embryos of carp fish for the effect of different temperature and oxygen regime of reservoirs // *Visnyk of Lviv University. Biological series.* 2017 Vol. 75. P. 14–22 (in Ukraine).
7. **Vodyanitskiy O.M.**, Potrokhov O.S., Grinevich N.E. Change of activity of enzymes of energy metabolism of carp embryos due to the action of abiotic factors of the aqueous medium // *Technology of production and processing of livestock products.* BNAU. 2016. No. 1. P. 9–16 (in Ukraine).
8. **Vodyanitskiy O.M.**, O.S. Potrokhov, N.E. Grinevich, Y.V. Kunovsky, N.M. Prysyzhnyuk, O.R. Michalsky Influence of temperature fluctuations of reservoir on protein content in embryos and larvae of perch (*Perca fluviatilis*, L.) // *Technology of production and processing of livestock products.* BNAU. 2016. № 2. P. 56–61 (in Ukraine).
9. **Vodyanitskiy O.M.** Influence of the temperature regime of the reservoir on the embryogenesis of the carp // *Current problems of modern hydroecology. Scientific practice conf. for young scientists. Dedicated to the 95th anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine.* Kyiv. 2013. P. 14–15 (in Ukraine).
10. Beloshapka T.V., **Vodyanitskiy A.M.**, Matvienko N.N., Zheltonozhskaya T.B., Permyakova N.M. The use of vitamins A and B6, encapsulated in polymeric carriers, in the growth of fry of scaly carp // *Modern problems of teaching and research of biology in higher educational institutions of Ukraine, Mat. And Allukr. scientific practice. conf. Young Scientists and Students with International Participation,* October 8–9, 2014, Dnipropetrovsk, Ukraine. Dnipropetrovsk. 2014. P. 111–113 (in Russian).
11. **Vodianitskiy O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G. Embryonic development of carp and activity of enzymes of energy and plastic exchange under the influence of

the fluctuations of the temperature regime of the reservoir // Modern problems of theoretical and practical ichthyology. Mate. VII International ichthyol. scientific practice. conf. Dedicated to the 140th anniversary of the Kherson State Agrarian University. September 10–13, 2014 Melitopol–Berdyansk, Ukraine. Melitopol–Berdyansk. 2014. P. 38–42 (in Ukraine).

12. **Vodyanitskyi O.M.** Activity of enzymes of energy and plastic metabolism of white embryos on the effects of fluctuations of temperature and oxygen regime of reservoirs // Modern Hydroecology: the place of scientific research in solving actual problems. Zb mat. scientific practice. conference dedicated to the 75th anniversary of the Institute of Hydrobiology, NAS of Ukraine. April 2–3, 2015. Kyiv. 2015. P. 16–18 (in Ukraine).

13. **Vodianitskyi O.M.** Activity of the LDH enzyme in the embryos of the white carp depending on the action of the sharp fluctuations of the temperature and oxygen modes of the reservoir // Scientific researches of youth in the third millennium: theses of international reports. scientific practice. conf. young scientists, post-graduate students and doctoral students "Ecological problems of the modern world and ways of their solution", May 14–15, 2015. Belaya Tserkov, 2015. P. 13 (in Ukraine).

14. **Vodyanitskyi O.M.** Influence of abiotic factors of the water environment on early fish embryogenesis // Ecological problems of Ukraine and ways of their solution: theses of reports of the state. scientific practice. Conf., November 19, 2015. Belaya Tserkov, 2015. P. 26 (in Ukraine).

15. **Vodianitskyi O.M.** Activity of the enzyme of SDH embryos of the white carp and grass carp under the influence of the temperature and oxygen fluctuations of the reservoir // International scientific practice. conf. young scientists, graduate students and doctoral students. "Scientific researches of youth in the third millennium", May 19–20, 2016. Bila Tserkva. 2016. P. 42–43 (in Ukraine).

16. **Vodyanitskyi O.M.**, Prichepa M.V. Influence of abiotic factors on $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity during embryonic development of carp and grass carp // Scientific-practical. conf. Young Scientists "Modern Hydroecology: The Place of Scientific

Research in Solving Current Problems" 6–7 October 2016. Kyiv. 2016. P. 13–15 (in Ukraine).

17. **Vodyanitskyi O.M.**, Kunovskyi Y.V. Effect of fluctuation of temperature and oxygen regime of reservoirs on the amount of proteins and glycogen in carp embryos // State scientific practice. conf. "Agrarian Science - for Production" November 17. Belaya Tserkov. 2016. P. 18–19 (in Ukraine).

18. Beloshapka T.V., Matvienko N.M., **Vodianitskyi O.M.** The Influence of Vitamins A and B6 on Fisheries and Biological Characteristics of Carp Koi (*Cuprinus carpio koi*) when Affected by Stress Factors // Modern problems of theoretical and practical ichthyology. Mate. IX International ichthyol. scientific practice. conf. Odessa State Environmental Unitary Enterprise, September 14–16, 2016. Odessa. 2016. P. 17–19 (in Ukraine).

19. **Vodyanitskyi O.M.**, Potrokhov O.S., Zinkovskyi O.G. Activity of enzymes of energy exchange in embryonic and larvae of roacha under effects of fluctuation of temperature and oxygen content of the reservoirs // Mat. II International scientific and practical. conf. "Problems of functioning and increase of bio-productivity of water ecosystems". September 12–15, 2017, the city of Dnipro, Ukraine. Dnipro. 2017. P. 50–52 (in Ukraine).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	14
Перелік умовних позначень.....	16
ВСТУП.....	17
РОЗДІЛ 1 МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ВПЛИВУ АБІОТИЧНИХ ТА АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ.....	23
1.1. Основні абіотичні чинники водного середовища та їх дія на гідробіонтів.....	23
1.1.1. Вплив температурного режиму водного середовища та його коливань на фізіологічний стан риб	24
1.1.2. Вплив коливань кисневого режиму водного середовища на фізіологічний стан риб	28
1.1.3. Вплив концентрації водневих йонів (рН) на фізіологічний стан риб	30
1.2 Критичні періоди в ранньому ембріогенезі різних видів риб.....	32
1.3 Стрес та механізми адаптації риб до несприятливих чинників водного середовища	34
1.4 Роль білків, ліпідів, глікогену та ферментів в адаптації ембріонів риб до дії несприятливих чинників водного середовища.....	37
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	47
2.1. Методика постановки експериментів.....	47
2.2. Цитогенетичні методи досліджень.....	48
2.3. Біохімічні методи досліджень.....	49
РОЗДІЛ 3 ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ВИЖИВАННЯ, РОЗВИТОК І ЦИТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОНІВ ТА ЛИЧИНОК РИБ.....	51
3.1. Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на виживання та розвиток коропових риб.....	51

3.2 Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на цитологічні показники ембріонів та личинок риб.....	62
РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ КОЛИВАНЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ НА ЗАГАЛЬНІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОНІВ, ПЕРЕДЛИЧИНОК ТА ПЛОДЮЧІСТЬ РИБ	73
4.1. Вміст загальних білків у риб на ембріональних та ранніх постембріональних етапах їх розвитку за дії коливань температурного та кисневого режиму водойми	73
4.2. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на вміст глікогену у риб під час ембріонального та раннього постембріонального етапів їх розвитку	85
4.3. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на вміст ліпідів в ембріонах та передличинках риб.....	96
4.4. Зміни вмісту загального білка, ліпідів, глікогену в гонадах та плодючість краснопірки (<i>Scardinius erythrophthalmus</i> L.) за дії температури та вмісту розчиненого кисню у воді.....	106
РОЗДІЛ 5 ЗМІНА АКТИВНОСТІ ОСНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА ПЛАСТИЧНОГО ОБМІНУ В ЕМБРІОНАХ ТА ПЕРЕДЛИЧИНКАХ РИБ ЗА ДІЇ РІЗНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ	110
5.1. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ембріонах та передличинках риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.....	111
5.2. Зміна активності сукцинатдегідрогенази в ембріонах та передличинках риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.....	127
5.3. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.....	140
5.4. Зміна активності протеаз в ембріонах риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.....	155
РОЗДІЛ 6 УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	167
ВИСНОВКИ.....	180

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ФАХОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....183

Перелік умовних позначень

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

СДГ – сукцинатдегідрогеназа

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

Нм – наномоль

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

ПО – перманганатна окисність

БО – дихроматна окисність

мг/дм³ – міліграм на кубічний дециметр

°С –градус Цельсія

мг/г – міліграм на грам

мм – міліметр

мг – міліграм

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

РНК – рибонуклеїнова кислота

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

Рис. – рисунок

хв. – хвилина

рН – водневий показник

Р – фосфор

ВСТУП

Актуальність теми. Різке коливання абіотичних чинників водного середовища спричиняє негативну дію на рибу на всіх етапах їх розвитку. Ікра та личинки через те, що їх системи захисту знаходяться на стадії розвитку і вони не мають можливості покинути ділянки з несприятливими умовами та зони забруднення, найбільш вразливі до їх дії. Нехарактерні температури, істотні зміни газового режиму викликають порушення поділу клітин, процесів диференціації органів та тканин, різноманітні ембріопатії та змінюють перебіг метаболічних процесів в ембріонів риби [29, 46, 48, 50]. Тератогенез у риби спостерігається під дією широкого спектру чинників водного середовища, викликаючи суттєве зниження життєздатності ембріонів та в багатьох випадках негативно впливає на відтворення природних популяцій риби або на результати штучного їх розведення [26–33, 59–63]. Дослідження впливу зміненого температурного режиму водойми на життєдіяльність риби почалися у зв'язку з тепловим забрудненням води, викликаним роботою енергетичних об'єктів. В багатьох річках температура води збільшилась на 4–5°C, що суттєво змінило умови існування риби. Аналогічно діють зміни клімату, які спостерігаються останнім часом [1, 2, 3].

Як і інші пойкилотермні тварини риби, істотно залежать від температури навколишнього середовища. У більшості риби температура тіла всього на 0,5–1,0°C відрізняється від температури води [10, 21, 45, 46]. Саме температура в значній мірі регулює інтенсивність обміну речовин, темпи розвитку риби. В межах певного діапазону часто спостерігається пряма залежність між швидкістю розвитку ембріонів та зміною температури. Поряд з пристосованістю риби до певних величин температури, досить велике значення має і амплітуда її коливань, при якій можуть жити одні і ті ж види [4–9].

Зазвичай риби тропічної та субтропічної зони на відміну від риби помірних та високих широт не в змозі переносити значні коливання температури води [7, 8, 9].

У сучасних літературних джерелах вказано, що низка абіотичних чинників має ембріотоксичну дію, яка проявляється в уповільненні ембріогенезу риби, появою аномальних зародків, зниженні темпів росту та швидкості витрати жовткових мас, зміні інтенсивності газообміну та кровотворення, виникненні патології в органах та тканинах [62–65, 211–213, 215, 217, 219, 224].

Здатність риби жити в певному температурному інтервалі є еволюційно сформованою адаптацією до температурного режиму оточуючого середовища тої або іншої групи риби. Проте, поряд з адаптацією до певних термічних умов окремої водойми, особливо важливе значення має їх здатність протидіяти різким короткочасним або тривалим змінам температури [2, 3]. У зв'язку з цим проводяться експериментальні дослідження стійкості риби до високих та низьких (граничних) температур, а також аклімації риби до підвищених або знижених температур [4–8].

Отже, вивчення впливу абіотичних чинників на ранні етапи розвитку живих організмів є необхідною умовою для обґрунтування безпечних рівнів змін у навколишньому середовищі та буде сприяти прогнозуванню стану риби на нерестовищах, й відповідно розробки методів спрямованих на підвищення рибопродуктивності як в природних водоймах, так і у системах аквакультури.

Зазначені проблемні питання були покладені в основу цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України: «Фізіолого-біохімічні та цитогенетичні механізми пристосування риби та безхребетних до несприятливих змін екологічних чинників» (№ держреєстрації 0113U001581), «Механізми функціонування прісноводних екосистем та адаптації гідробіонтів до дії абіотичних факторів в умовах глобальних кліматичних змін» (№ держреєстрації 0112U002183).

Мета і завдання дослідження. Метою досліджень було встановлення впливу абіотичних чинників водного середовища та їх природних коливань на

ранні етапи ембріонального розвитку риб та оцінка ступеню їх дії за анатомічними, морфологічними, біохімічними та генетичними показниками.

Реалізація мети здійснювалась вирішенням наступних задач:

1. Встановити та систематизувати основні анатомічні ознаки ембріонатів риб за дії абіотичних чинників, зокрема температури води та концентрації розчиненого кисню;
2. Вивчити залежність між життєздатністю та наявністю патології ембріонів і дією ушкоджуючих чинників;
3. Визначити цитогенетичний вплив температури, газового режиму за показниками кількості мікроядер в клітинах ембріонів та личинок на різних стадіях розвитку корошових та окуневих видів риб;
4. Вивчити зміни фізіолого-біохімічних показників ембріонів та личинок риб за дії абіотичних чинників водного середовища;
5. Дослідити адаптивні реакції ембріонів та личинок риб на зміну чинників навколишнього середовища.

Об'єкт дослідження – ікра на різних стадіях ембріонального розвитку та личинки окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.), плітки (*Rutilus rutilus* L.), йоржа звичайного (*Gymnocephalus cernuus* L.), коропа (*Cyprinus carpio* L.), білого амура (*Ctenopharyngodon idella* Val.), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) та плідники краснопірки (*Scardinius erythrophthalmus*, L.).

Предмет дослідження – біологія та ранній ембріогенез риб за дії абіотичних чинників водного середовища.

Методи дослідження. Іхтіологічні, ембріологічні, цитологічні, фізіологічні, біохімічні та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі оцінки морфологічних, цитологічних, фізіологічних та біохімічних показників ембріонів та личинок корошових і окуневих риб вперше обґрунтовано безпечні рівні змін екологічних чинників на нерестовищах природних водойм. Отримано нові дані щодо впливу значних коливань абіотичних чинників водного середовища на ембріональний розвиток аборигенних видів риб та їх масо-

розмірні характеристики. Показано, що абіотичні чинники володіють потужним тератогенним ефектом на ембріонів та личинок риб. Вперше встановлено основні закономірності змін величин загально-біохімічних показників та активності ферментів енергетичного та пластичного обміну при підвищеній температурі води та зниженій концентрації розчиненого кисню. Вперше науково обґрунтовано оптимальний рівень температури води для нормального ембріонального розвитку риб, а саме: для коропа – 20–24°C, білого товстолобика – 25–28°C, білого амура – 21–29°C, йоржа – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плітки – 15–17°C. Ці оптимальні температурні умови для ембріогенезу риб дійсні лише при достатній концентрації розчиненого кисню у воді (не нижче 5 мг/дм³). При зниженій концентрації кисню у воді оптимум температури зменшується. Встановлено, що переважання оптимальних величин температури води на нерестовищах в період масового нересту різних видів риб може призвести до зниження життєстійкості ембріонів риб та загалом до зменшення ефективності їх відтворення і рибопродуктивності водойм.

Отримані нові дані щодо застосування цитогенетичних, морфологічних та біохімічних показників ембріонів та личинок риб для оцінки негативного впливу екологічних чинників водного середовища.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати обґрунтовують безпечні рівні змін екологічних чинників водного середовища для ембріонального розвитку риб. На підставі проведених досліджень можна оцінити ефективність нересту на нерестовищах та дати прогноз рибопродуктивності природних водойм на наступні роки. Визначені оптимальні рівні температури води та межі її коливань, вмісту розчиненого кисню можна застосовувати при відтворенні аборигенних видів риб в штучних умовах.

Рекомендовано використання ікри білого товстолобика та білого амура, що розвивається, для оцінки якості водного середовища та впливу екологічних чинників за показниками кількості мікроядер в клітинах, ступеню аномального розвитку ембріонів та активності ферментів енергетичного комплексу.

Зазначені дані можуть також бути використані в учбовому процесі при викладанні дисциплін іхтіологічного, фізіологічного, біохімічного та екологічного змісту на факультетах природничого профілю.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертації сумісно з науковим керівником розроблено програму та методологію досліджень. Автор дисертації самостійно здійснював підбір та обробку літературних джерел, виконав експериментальні дослідження. При спільному виконанні експериментів з співробітниками відділу біології відтворення риб Інституту гідробіології НАН України співвиконавці приводяться як співавтори відповідних публікацій. Друковані роботи підготовлені безпосередньо автором, частина робіт в співавторстві з наступним обговоренням з співробітниками. Автором самостійно проведено аналіз первинного матеріалу, сформульовано положення та висновки роботи, а аналіз загальних положень та стратегію викладення матеріалу в дисертації проведено разом з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на наступних міжнародних конференціях: Науково-практичній конференції для молодих вчених, присвяченій 95-річчю НАН України «Актуальні проблеми сучасної гідроекології» (Київ, 2013); VII Міжнародній іхтіологічній науково-практичній конференції, присвяченій 140-річчю Херсонського державного аграрного університету «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології» (Мелітополь-Бердянськ, 2014); I Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України» (Дніпропетровськ, 2014); Науково-практичній конференції, присвяченій 75-річчю заснування Інституту гідробіології НАН України «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів і докторантів «Екологічні проблеми сучасного світу та шляхи їх вирішення. Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (Біла Церква, 2015); Державній науково-практичній конференції

«Екологічні проблеми України та шляхи їх вирішення» (Біла Церква, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів і докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (Біла Церква – 2016); Науково-практичній конференції молодих вчених «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2016); IX міжнародній іхтіологічній науково-практичній конференції Одеського державного екологічного університету «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології» (Одеса, 2016); Державній науково-практичній конференції «Аграрна наука – виробництву» (Біла Церква, 2016); II Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем» (Дніпро, 2017).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 19 – наукових праць, з яких 6 – у фахових виданнях, 2 – у збірниках наукових праць; 11 – у матеріалах та тезах конференцій.

Структура та обсяг роботи. Дисертаційну роботу викладено на 208 сторінках друкованого тексту. Вона складається зі вступу, аналітичного огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 4 розділів власних досліджень з обговоренням і узагальненням одержаних результатів, висновків і списку використаної фахової літератури. Текст ілюстровано 64 рисунками і 6 таблицями. Список використаної фахової літератури містить 230 джерел, із них 92 латиною.

РОЗДІЛ 1 МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРИСТОСУВАННЯ РИБ ДО ВПЛИВУ АБІОТИЧНИХ ТА АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ

1.1. Основні абіотичні чинники водного середовища та їх дія на гідробіонтів

Фізичні, хімічні, фізико-хімічні, гідрологічні, оптичні та інші параметри водного середовища є необхідними умовами існування водяних організмів, формування і функціонування їх популяцій, угруповань, біоценозів та екосистем в цілому [1, 7, 8, 10].

Вода є не тільки навколишнім середовищем для гідробіонтів, вона одночасно є і їхнім внутрішнім середовищем, оскільки їх тіло до 90% складається з води. Гідробіонти створюють також зовнішнє середовище один для одного, споживаючи кисень, виділяючи вуглекислий газ та продукти свого обміну (екзометаболіти), поїдаючи одне одного (хижаки – жертви) тощо.

Різні чинники можуть взаємодіяти між собою, підсилюючи або послаблюючи негативний вплив на біоту. У першому випадку йдеться про синергічну, а в другому – про антагоністичну дію. Наприклад, отруєння риб посилюється в умовах кисневого дефіциту. До того ж характер взаємодії може бути непрямим, а опосередковуватися через низку проміжних процесів, або дія може бути двобічною: наприклад, білий амур, виїдаючи вищі водяні рослини, загалом підвищує рибопродуктивність ставків, але разом з тим підриває кормову базу коропа, який живиться серед заростей макрофітів, та спричиняє погіршення газового режиму внаслідок їх видалення.

Багатофакторність водного середовища та взаємодія чинників зумовлюють ті труднощі, які виникають при з'ясуванні причин тих чи інших аномальних явищ у водних екосистемах та при прогнозуванні змін, які можуть виникати під впливом природних чи антропогенних чинників [1].

1.1.1. Вплив температурного режиму водного середовища та його коливань на фізіологічний стан риб

Тепло, що виробляється в організмі риб в результаті обмінних процесів, не затримується в тілі, оскільки у них немає механізмів, що регулюють його віддачу у зовнішнє середовище. Внаслідок цього температура їх тіла непостійна та змінюється залежно від температури навколишнього середовища.

Теплолюбні риби нашої фауни такі, як сазан, короп, карась, лин, плітка, рослиноїдні та осетрові риби і ін., найбільш інтенсивно харчуються при температурі 17–28°C, при зниженій температурі харчова активність сповільнюється, а у низки риб зимою припиняється, і вони в цей час знаходяться в малорухливому стані в глибоких місцях водоймища. Розмноження відбувається в теплу пору року – навесні і влітку. Таким чином, обмін речовин у них найбільш ефективний при відносно високій температурі (в певних межах). Вся життєдіяльність риб (харчування, ріст, розмноження та ін.) безпосередньо залежить від температури води, тому риби дуже чутливі до її зміни [1, 7, 8, 10, 30, 46, 51, 62].

Однак, і в межах оптимальної температури її підвищення або зниження викликає відповідні порушення життєдіяльності риб. При цьому змінюється реакція організму на одні й ті ж чинники середовища: при підвищенні температури збільшується споживання кисню, прискорюється розвиток, посилюються пошук, споживання і перетравлення їжі – збільшується шлункова секреція і моторна діяльність кишківника, прискорюється всмоктування розчинених речовин з навколишнього середовища, підвищується чутливість до токсикантів та ін. [72, 73, 75, 78, 98, 114, 115]. При цьому велику роль відіграє стан організму, а саме вік, ступінь статевої зрілості та ін. Надмірне охолодження призводить до застуди у риб – помутніння покривів, відшарування епідермісу. Різка зміна температури води особливо несприятлива для організму риб. Температура, яка виходить за межі, допустимої для цього виду, викликає шок і подальшу їх загибель.

Пристосування організму до температурних умов середовища відбувається на клітинному рівні. Порогові температури є межею опору клітин організму на дію екстремальних температур зовнішнього середовища. Оскільки ця здатність у різних видів різна, то температурні пороги їх неоднакові. Однак, на личинках коропа було показано, що порогова температура може трохи змінюватися залежно від температури вирощування плідників. Більш того, температурний режим їх утримання позначається на термостійкості потомства [10, 11].

Мілководдя є найбільш високопродуктивними ділянками водойм. Саме ця зона є найважливішим місцем мешкання для більшості видів риб. Особливо велику цінність вона представляє як нерестовище і місце нагулу для личинок і молоді риб. Всі фітофільні види риб пов'язані з цією зоною водойми, оскільки тільки тут є прибережно-водні рослини, які служать не тільки субстратом для відкладання ікри, але й сховищем для їх молоді на ранніх і послідовуючих етапах розвитку [12, 13].

Для оцінки екологічного стану мілководдя застосовуються різні методи біомоніторингу водойм, зокрема іхтіологічні показники. Як вказано в методичних рекомендаціях, щодо біохімічного моніторингу стану водного середовища найбільш доцільно використовувати такі види риб, які характерні для цих водойм [14, 15]. Автори запропоновують як види-біомонітори – головня, бичка пісочника, карася сріблястого та ляща (в річкових системах), а також плітку, окуня, ляща, плоскирку та йоржа (в водоймах озерного типу). При проведенні біомоніторингу водойм за іхтіологічними показниками слід застосовувати морфо-фізіологічні, токсикологічні, фізіолого-біохімічні біомаркери іхтіофауни, що дає змогу більш точно оцінити якість водного середовища.

Риби, як і багато інших груп організмів, були об'єктом досліджень з вивчення впливу абіотичних чинників середовища. Однак, в таких роботах Константинов А.С., Зданович В.В., Шолохов А.М. та ін. головна увага була спрямована на молодь риб та старші вікові групи [20, 21]. В той же час саме ембріональний та ранній постембріональний розвиток є найбільш уразливим

етапом в життєвому циклі риб. В цей час відбувається формування всіх найважливіших функціональних систем організму, а смертність риб може досягати максимальних величин. Експериментальне вивчення впливу коливань найважливіших абіотичних чинників середовища на ембріональний та личинковий період розвитку риб може допомогти в отриманні більш життєздатної молоді в лабораторних і виробничих умовах [22–25].

Для кожного виду риб існує певна амплітуда температури, в межах якої можливий їх ембріональний розвиток. Від температури залежить швидкість проходження ембріогенезу. Відхилення від оптимальної величини температури та її наближення до «порогової» викликає порушення у ембріогенезі риб, призводить до загибелі зародків або до появи аномалій їх розвитку. За дії порогової температури на запліднену ікру також можлива поява поліплоїдності клітин [26–33].

Фізіологічні реакції організму мають вирішальне значення у процесах адаптації риб до різких змін температурного режиму та інших екологічних чинників в природних водоймах. Проте ефективність цих реакцій помітно знижується, коли виникає необхідність пристосування до більш тривалих температурних змін, які розвиваються протягом декількох діб або неділь особливо при температурному забрудненні водойми або при тривалому перевищенні температурних норм для цього регіону, або при багатомісячних сезонних змінах [34–37]. У цих випадках істотне значення набувають біохімічний рівень адаптації організму та механізми компенсаторної біохімічної аклімації, які забезпечують нормальну життєдіяльність риб у широкому діапазоні температур та забезпечують їх виживання при екстремальних температурах [38–42].

Відомо, що зміни температури істотно впливають на швидкість метаболічних реакцій і загальну інтенсивність обміну. Підвищення температури в толерантному діапазоні призводить до посилення інтенсивності обміну, а зниження температури – до його зниження [3, 33, 34, 224]. Між тим основні обмінні процеси в організмі повинні підтримуватися на певному рівні,

котрий може змінюватися лише у доволі вузьких межах, інакше настає порушення гомеостазу, яке, в свою чергу, викликає загибель організму [43–47].

Максимальний темп росту спостерігається у личинок коропа при 32°C, а у рослиноїдних риб при 33°C за умов насичення води розчиненим киснем. Найбільше виживання личинок коропа спостерігається при температурі води 29°C, рослиноїдних риб – 30°C. Однак найбільша подальша життєздатність личинок коропа відмічена при температурі води 26°C, рослиноїдних риб – 27–28°C [15–20, 69].

Низка авторів вказують, що зміна швидкості росту взагалі найбільш точно слідує закону параболічного росту, тобто швидкість росту падає обернено пропорційно часу. Найбільший розмір личинок виявляється не при самому швидкому розвитку, а тільки в середній частині температурного діапазону [39, 48, 49, 50].

Очевидно, при високій температурі відбувається значна втрата енергоємних речовин, яка пов'язана з процесами дихання і виділення. При низькій температурі повільно збільшується біомаса личинок і тільки в середній частині температурного діапазону залишається більше пластичного і енергетичного матеріалу для розвитку організму. Такі закономірності спостерігали на різних видах риб, зокрема у райдужної форелі, судака [51–58]. Розміри дорослих особин в різних кліматичних регіонах також збільшуються при зростанні температури від мінімуму до певної величини, а потім зменшуються в міру збільшення температури. При температурах вище і нижче оптимальної зони збільшується частота аномалій розвитку ембріонів, і температура стає потужним тератогенним чинником. Встановлено, що за межами оптимуму температури при розвитку молоді риб виникають морфологічні аномалії [59–63].

Зміни в морфології, у свою чергу, призводять до функціональних порушень, які впливають на ріст ембріонів, рухову активність, ембріональну моторику, ритм серцевих скорочень, чутливість ембріонів та личинок до екологічних чинників, на функціонування апарату рівноваги, процеси

кровотворення, рівень загального обміну. За дії сублетальної і летальної температури та її коливаннях під час розвитку у зародків змінюються проникність клітинних мембран та обмін речовин [64–69]. Для успішного штучного відтворення риб особливо важливим є розширення робіт по визначенню сприятливих екологічних умов та встановлення біологічних, морфофізіологічних та біохімічних ознак життєздатної молоді. Накопичення матеріалів з розвитку організмів в різних умовах середовища, впливу цих чинників на життєві функції буде сприяти встановленню закономірностей адаптації організмів і популяцій до нових умов середовища.

Відомо, що в осетра сибірського, коропа і окуня річкового найбільша швидкість ембріонально-личинкового розвитку і темпів росту передличинок при мінімальній смертності особин спостерігаються при постійних величинах температури 16, 22, 14°C, солоності – 0, 4, 2‰ та рН–7,5, 8,0, 8,5 од. відповідно [70–75]. У разі відхилення статичних величин чинника від оптимальних спостерігається погіршення ембріонального та личинкового розвитку. Невеликі періодичні коливання температури, солоності і рН позитивно впливають на ембріогенез та ранній постембріогенез риб. Екологічним оптимумом для риб в цей період розвитку не є певні константні величини чинників, а їх коливання в межах толерантного діапазону для окремого виду риб [76–83].

1.1.2. Вплив коливань кисневого режиму водного середовища на фізіологічний стан риб

Кисень з атмосфери дифундує в воду повільно, тому вміст його зменшується від поверхні до глибини. Різноманітні фізичні та біологічні процеси у водоймі (циркуляційні струми, вітрове перемішування, життєдіяльність рослин і тварин та ін.) є причиною значної мінливості їх кисневого режиму. Переважна більшість риб дихає розчиненим у воді киснем, тому кількість його в навколишньому середовищі має для них першочергове значення. Різні види риб для нормального дихання споживають кисень в різній

кількості. Найбільш вимогливими є мешканці холодних, проточних водойм (наприклад, лососеві). Для них необхідною концентрацією кисню 4,4–7,0 мг/дм³. Окунь та йорж можуть жити при вмісті кисню 2,5 мг/дм³, а найбільш витривалі риби нашої фауни карасі не відчувають особливого пригнічення при концентрації 0,3 мг/дм³, порогова концентрація кисню для коропа (цьоголітки, молодь) становить 1,8–3,2 мг/дм³ [84–91]. Залежність життєдіяльності риб від вмісту розчиненого кисню у воді особливо помітна в період ембріонального розвитку риб. Концентрація кисню дуже сильно впливає на швидкість розвитку і виживання ембріонів. Так, при вмісті кисню 1,2 мг/дм³ ембріональний розвиток коропа триває 120 год., при чому виживання зародків становить 40%. При концентрації кисню 9,0–12,0 мг/дм³ тривалість розвитку скорочується до 70–68 год., а виживання ембріонів зростає до 92–98% [92–95].

Відомо, що кисень виконує функцію акцептора електронів в дихальному ланцюзі мітохондрій клітин і тим самим визначає енергетичний статус клітин, тканин і організму в цілому. Тому основна увага дослідників при вивченні толерантних до гіпоксії форм життя зосереджено на біоенергетичних процесах. Встановлено, що у гідробіонтів, які мешкають в зонах кисневого дефіциту, спостерігається істотна реорганізація метаболічних процесів, спрямована на оптимізацію енергетичних витрат організму [225]. У тканинах підвищується вміст аланіну і сукцинату, як кінцевих продуктів обміну, що не властиво для аеробного обміну, посилюється продукція NH_4^+ [228], зростає активність аланін- і аспартатамінотрансферази, активізуються процеси переамінування амінокислот (глутамату, аланіну) [229]. Показано також, що ферментативні системи циклу Кребса можуть бути задіяні в анаеробних процесах генерації енергії, а дихальний ланцюг мітохондрій клітин набуває некомпенсованого типу організації [226]. Певні закономірності виявлено і на рівні клітинних систем. Встановлено, що еритроцити толерантних до гіпоксії риб в умовах дефіциту кисню здатні до збалансованого пригнічення мембранних і метаболічних функцій [227], при цьому спостерігаються характерні морфологічні зміни клітин і підвищується їх деформованість.

Оскільки при гіпоксії обмін речовин не може підтримуватися на вихідному рівні, то вищим ступенем адаптації до гіпоксії серед гідробіонтів є комплекс скоординованих реакцій, спрямований на мінімізацію процесів енергетичного обміну достатнього для підтримки процесів життєдіяльності організму. Адаптація метаболізму відіграє вирішальну роль в умовах гіпоксії, коли кількість кисню в середовищі виявляється нижче критичних величин. При цьому організм переходить на залежний тип дихання, коли резерви систем кисневого забезпечення виявляються вичерпаними. Цей показник є видоспецифічним і є одним з критеріїв визначення ступеня стійкості видів до нестачі кисню. У оксифільних видів його величина вища [230]. Однак, незалежно від ступеня стійкості виду до гіпоксії, при досягненні критичної величини відбувається поступове пригнічення процесів аеробного ресинтезу АТФ і організм поступово переходить на анаеробні шляхи метаболізму [212].

Перенасиченість киснем води гальмує утворення гемоглобіну і ріст зябрових пелюсток молоді риб, а також розвиток їх селезінки. З початком руху рота в його порожнині скупчується кисень у вигляді бульбашки діаметром 1 мм, внаслідок цього вона тримається біля поверхні вертикально. При зниженні концентрації кисню це явище швидко зникає, але сліди його впливу на організацію молоді залишаються непоправними [84–88, 96–100].

1.1.3. Вплив концентрації водневих йонів (рН) на фізіологічний стан риб

Величина рН, яка обумовлена концентрацією водневих йонів, є одним з найважливіших абіотичних чинників зовнішнього середовища, що визначає видовий склад і чисельність гідробіонтів у водоймі. Вплив рН на життєдіяльність риб пов'язаний з тим, що здатність гемоглобіну використовувати розчинений у воді кисень при різних концентраціях водневих йонів неоднакова. Внаслідок цього зміна рН води призводить до зміни інтенсивності дихання і кисневого порога [50, 81, 101].

Найбільш сприятлива для дихання більшості риб величина рН близька до нейтрального. При істотних змінах рН в кислому або лужному напрямку (тобто при збільшенні або зменшенні концентрації водневих йонів) утруднюється дихання, зростає кисневий поріг, послаблюється інтенсивність харчування [50, 81, 101–103].

Однак межі рН, в яких можуть жити прісноводні риби, неоднакові і за інших рівних умов залежать насамперед від виду. Найбільш витривалими є карась, короп та щука, які витримують коливання рН в межах 4,0–10,0. Менш стійка до цього чинника є струмкова форель, для якої порогові величини рН знаходяться на рівні 4,5 та 9,5 [101–104]. Стійкість ікри різних видів риб до підвищеної величини водневих йонів також неоднакова. Найбільш вразливою, якщо виходити з частки виживання, є ікра рослиноїдних риб, зокрема білого товстолобика (рН 7,3) та білого амура (рН 6,2), йоржа (рН 6,0). Найбільш стійка до понижених величин рН ікра деяких видів лососевих, зокрема кумжі, для якої порогова величина рН є 4,0–4,1 та лосося – від 3,4 до 4,4. Середній рівень стійкості до змін рН виявлено в щуки, окуня, плотви та райдужної форелі [1, 101, 103, 105].

Короп, окунь звичайний та сибірський осетер відносяться до мешканців водойм лужного типу, в яких активна реакція лише іноді падає нижче 6, а в деяких випадках піднімається до 10 і більше [50, 81].

В кислому середовищі від рН 6,5 до 7,0 можливе повноцінне запліднення та нормальний ембріональний розвиток ікри коропа. Межею лужного середовища являється показник рН близький до 9,5. Найбільш сприятливим середовищем для запліднення та ембріонального розвитку коропа вважається більш вузький діапазон рН в межах 7,5–8,5. В кислих водах порушується сам процес запліднення виметеної ікри, оскільки різко знижується час життя сперматозоїдів [101–103].

1.2 Критичні періоди в ранньому ембріогенезі різних видів риб

Чутливість ембріонів до дії різних чинників навколишнього середовища, в тому числі абіотичних, таких як дефіцит кисню, різкі коливання температури, які виходять за межі оптимумів, механічні пошкодження та інше, впливають на хід генетичних та морфологічних процесів у них, порушуючи швидкості розвитку окремих органів, викликають появу уродливих зародків [103, 105, 106].

Критичні періоди в ембріональному розвитку риб виявляються на стадіях дроблення клітин на морулі, гастрюляції та в ембріонів під час органогенезу. Однак, наявність чутливих періодів не завжди пов'язано з процесами диференціації, наприклад, початком дроблення клітин, періодом вилуплення ембріонів з оболонок [46, 105, 106].

Так, в ембріонів окуня та йоржа (весняно нерестуючі риби) в умовах гіпоксії відмічаються критичні періоди на початкових стадіях дроблення клітин, перед початком гастрюляції, а також в період формування осьових органів. Було також відмічено, що на чутливість ембріонів дуже впливають не тільки видові особливості морфофізіологічної реактивності, але й характер пошкоджуючого агенту. Дія одного й того ж несприятливого чинника, наприклад температури, має різний вплив на хід ембріонального розвитку [93, 99]. Найбільше зниження стійкості ембріонів спостерігається перед їх вилупленням.

По відношенню до низької температури в ембріональному розвитку риб є лише один критичний період – стадії від 8 до 128 бластомерів. Слід відмітити, що критичні періоди на ранніх етапах ембріогенезу для в'юна майже співпадають і з іншими видами риб. Дослідження ікри в'юна, яка розвивається, показали, що періоди підвищеної чутливості ембріонів до дії механічних пошкоджень не співпадають з дією високих та низьких температур. Характер реакції ембріона в'юна на тепло та холод є однотипною тільки на початку розвитку зародка та різко відрізняється в середині та кінці ембріонального

розвитку [46]. Виявлення специфіки взаємодії організмів, що розвиваються, з умовами навколишнього середовища для різних систематичних та екологічних груп – є першочерговим завданням для оцінки відтворювальної здатності риб.

Встановлено, що момент переходу на екзогенне живлення для личинок риб також є критичним періодом. Відмічено відставання в розвитку личинок, які не споживали їжі. При довготривалому голодуванні личинок змінюється їх зовнішній вигляд та пропорції тіла. У виснажених личинок тіло викривлене, кишківник має гладку слизову тканину без складок, спостерігаються лише невеличкі бугорки. Так, при голодуванні личинок тріски протягом 14–15 днів з моменту вилуплення в кишківнику відмічаються незворотні процеси. З цього моменту починається масовий відхід личинок, вони приречені навіть при наявності корму в подальшому [46, 105, 106].

Неоптимальні абіотичні (температура, кисневий режим, солоність) та біотичні умови (порушення харчування) призводять до деформації нотохорди молоді пелагічних риб, що, в подальшому, призведе до кіфозу чи лордозу хребта [46].

З іншої сторони, розвиток структури та становлення функції плавального міхура з моменту переходу личинок на змішане харчування та в двомісячному віці у молоді також є критичним періодом [46, 105, 106, 113, 116].

Критичні періоди за своєю дією можна розділити на наступні типи:

1. Впливають на весь організм, можуть призвести до загибелі ембріону чи молоді;
2. Діють на один орган;
3. Впливають на певний тип тканин;
4. Діють на клітини.

Знання періодів підвищеної чутливості ембріонів особливо необхідно для створення оптимальних умов в період проходження їх розвитку та при вирощуванні молоді, за рахунок чого можна істотно підвищити життєздатність риб.

Кожна нова осциляція, що генерується ендogenousним годинниковим механізмом зародків, є сигналом для переходу до наступної стадії розвитку всіх клітин, які повинні брати активну участь в ній. Якщо справа стосується життєво важливих органів (серце, нирки, мозок), то дефект, який утвориться, може призвести до летального результату. Якщо ж порушується структура органу, пошкодження якого не дуже сильно впливає на життєздатність, то утворений дефект зберігається, а орган, отримавши наступний сигнал, входить в наступну стадію розвитку. Наприклад, коли під час сомітогенезу за допомогою теплового шоку були зроблені деформації в деяких сомітах, то наступні соміти продовжують розвиватися нормально і з нормальною швидкістю [46, 93, 99, 106].

1.3 Стрес та механізми адаптації риб до несприятливих чинників водного середовища

Раніше вважалося, що періодичні екологічні чинники, які пов'язані з природними явищами, не є стресовими і не виводять організми за межі норми реакції [107]. Однак в сучасних умовах підвищеного антропогенного навантаження на екосистеми в цілому періодичні явища можуть викликати необоротні зміни у водних біоценозах [108, 109].

Відповідно до класичного формулювання Сельє, «стрес це неспецифічна відповідь організму на будь-яку пред'явлену йому вимогу». За сучасними уявленнями, в організмі риб стресори викликають неспецифічні реакції, які допомагають рибі підтримати гомеостаз. Фізіологічні реакції на стрес можуть бути поділені на первинні (ендокринні зміни в рівнях катехоламінів і кортикостероїдів) і вторинні (зміни пов'язані з метаболізмом, гідромінеральним балансом тощо). Третинні зміни (або зміни на рівні цілого організму), наприклад, в швидкості росту, опорі хворобі та поведінці, можуть впливати з первинних і вторинних відповідей і можуть позначитись на виживанні [110, 112, 113].

При слабкому та нетривалому подразненні стрес-відповідь протікає в формі еустреса (фізіологічного стресу), що супроводжується мобілізацією енергетики клітин і організму в цілому, експресією певних генів, синтезом білків (в тому числі, ферментів) і формуванням структурного сліду адаптації. При цьому перебування організму в стані фізіологічного стресу вимагає від організму додаткової роботи (витрати на адаптацію), яка призводить до перебудови метаболізму і за рахунок гіперкомпенсації енергетичних витрат зміщує його у бік анаболізму. Це, в свою чергу, веде до підвищення стійкості організму до дії несприятливих чинників, прискоренню росту та розвитку. Саме цими явищами, напевно, і обумовлений позитивний ефект періодичних коливань чинників невеликої амплітуди на ембріональний розвиток риб. За дії на організми сильних або тривалих стресорів стрес-реакція проявляється у формі патологічного стресу (стадія виснаження по Г. Сельє). При цьому в результаті вичерпання енергетичних ресурсів і нездатності адаптивних систем адекватно реагувати на такі подразники, вони самі перетворюються на діючий чинник [110, 113–115].

Однак, розглядаючи розвиток стрес-реакції в ембріональний та личинковий період розвитку необхідно враховувати специфіку цього етапу онтогенезу. Перш за все, слід зазначити, що на відміну від дорослих риб процеси морфогенезу і становлення функцій багатьох органів у зародків не завершені [111–113]. Важливою особливістю ранніх етапів онтогенезу риб є регуляція гомеостазу, головним чином, на біохімічному рівні, ще без участі чинників контролю з боку ендокринної та нервової систем. Таким чином, в процесі ембріонального розвитку спостерігається поступове підключення до процесів регуляції нових механізмів і зміна ролі вже існуючих [114–116].

Аналіз літературних даних показав, що якщо ефектам циклічних змін температури на різні сторони біології ектотермів було присвячено багато робіт, в тому числі і в останні роки [117], то ефекти аритмічних змін температури досліджувалися недостатньо. Проте відомо, що організми як в природних, так і в антропогенно змінених водних системах можуть підлягати швидким, а іноді

непередбачуваним коливанням температури. Це відноситься і до організмів пелагіалі, де відбуваються щоденні добові вертикальні міграції, і до організмів літоралі, які схильні до великих добових коливань температури [118, 119].

Слід зауважити, що для більшості домінуючих видів не вивчені реакції на різкі, не циклічні впливи температури, не визначені величини верхньої температурної межі толерантності, не досліджена залежність цих величин від температурних умов мешкання і можливий їх зв'язок з температурами нормальної життєдіяльності та оптимальними температурами. До теперішнього часу практично не вивчені і ефекти післядії температурного чиннику середовища, коли реакція організму, популяції триває або починає проявлятися після завершення його впливу.

Тому значення температури, як чинника, що регулює всі сторони життєвих циклів гідробіонтів, завжди привертало і продовжує привертати велику увагу дослідників найрізноманітніших спеціальностей. У зв'язку з чим, як і раніше, актуальними залишаються проблеми вивчення температурної норми, наслідків температурного стресу, термотолерантності, механізмів сприйняття температури і стратегії терморегуляції. Важливе місце в низці названих проблем займає встановлення величин температурного оптимуму та меж толерантності видів [120].

До теперішнього часу дослідження стійкості до температурного чиннику було проведено в основному на етологічному (поведінковому) і фізіологічному рівнях [121]. При цьому клітинні механізми резистентності гідробіонтів до температури на сьогоднішній день залишаються недостатньо дослідженими. Є лише кілька робіт в цьому напрямку. Тим не менше, проблема вивчення специфіки цих механізмів у риб у зв'язку з можливим негативним впливом глобальних кліматичних змін на сьогоднішній день вимагає подальшого вивчення.

1.4. Роль білків, ліпідів, глікогену та ферментів в адаптації ембріонів риб до дії несприятливих чинників водного середовища

Активність ключових ферментів енергетичного обміну та метаболізму вуглеводів у риб при впливі різних чинників середовища дозволяє оцінити інтенсивність і напрямок шляхів аеробного і анаеробного синтезу АТФ, ступінь використання вуглеводів в енергетичному та пластичному обміні, виявити закономірності і механізми підтримки необхідного рівня метаболічного гомеостазу [122].

Аналіз літературних даних показує, що у швидкоростучих великих риб активність ферментів аеробного метаболізму (цитохромоксидази, цитратсинтази, малатдегідрогенази) та ферментів гліколізу (піруваткінази та лактатдегідрогенази) значно вища, ніж в повільно ростучих та дрібних риб. Це пояснюється тим, що активний ріст та розвиток молоді риб супроводжується посиленням синтезу структурних та запасних речовин, збільшенням рівня скорочувальних білків в м'язах, високою локомоторною активністю та приростом м'язової маси, а це, в свою чергу, вимагає високих енергетичних затрат. На характер зв'язку активності ферментів з розмірами та темпами росту риб чинить дію їх вік, стать та умови оточуючого середовища. Вивчення механізмів та закономірностей регуляції процесів енергетичного та пластичного обміну риб при формуванні варіацій в розмірі та темпах росту молоді вказує на те, що зміна активності ферментів по мірі збільшення маси тіла чи віку риб може регулюватися на різних рівнях – транскрипційному та посттранскрипційному. Однак ця тема потребує більш детальнішого вивчення. Активність ферментів аеробного та анаеробного обміну поряд з іншими біохімічними та молекулярно-генетичними показниками (співвідношення РНК до ДНК, рівень експресії генів ферментів та скорочувальних білків) можуть використовуватись для оцінки темпів росту риб та їх стану, при побудові моделей розвитку молоді за дії чинників навколишнього середовища, харчування, умов існування [122–124].

Жовтковий мішок містить в собі суміш речонин різної природи: фосфопротеїди, ліпопротеїди, глюкопротеїди, глікогену, фосфоліпідів, жирних кислот, тригліцеридів та ін. Частина його компонентів має ендогенне походження, а інша частина екзогенне [125–127].

Енергетичне забезпечення механізмів адаптації у риб відбувається з використанням та утилізацією трьох типів енергоємних сполук: ліпідів, білку та глікогену. На відміну від більшості хребетних тварин у переважній більшості видів риб наявне широке використання катаболізму білків білих м'язів у стресових чи несприятливих обставинах як основного джерела енергії та відповідно ресинтез та відновлення білкових ресурсів при нормалізації умов існування [128–132].

Найважливішим чинником, що визначає нормальне функціонування організму і його здатність адаптуватися до постійно змінних умов навколишнього середовища, є рівень енергетичного обміну. В процесі росту організму енергія у вигляді АТФ, перш за все, необхідна для синтезу структурних сполук, функціональних молекул і запасних речовин [117, 118, 129]. Основоположними процесами генерування енергії АТФ у вищих тварин є два метаболічних шляхи: аеробний і анаеробний – гліколіз, який веде до утворення молочної кислоти. Обидва ці процеси мають важливе значення для енергозабезпечення клітин різних органів і тканин організму, проте інтенсивність кожного з них визначається метаболічними умовами, швидкістю споживання АТФ і функцією клітин того чи іншого органу [133–136].

Як було встановлено для деяких видів риб, на синтез білків витрачається кількість АТФ, еквівалентна 40% від усього кисню спожитого організмом. В цілому на частку обмінних процесів в м'язах приходить більше половини АТФ, утвореної аеробним шляхом. Тому рівень аеробного метаболізму є одним з чинників, що визначають інтенсивність білкового синтезу в м'язових тканинах [137–140].

При температурній адаптації зміни у клітинних мембранах можуть відігравати важливу роль. Роль АТФ-аз при цьому може бути ключовою не

тільки в підтримці структурної цілісності мембран, але й в забезпеченні їх функціонального статусу, перш за все, йонного обміну [141–143].

Дослідження ферментативних систем різного рівня у риб в діапазоні сублетальних температур дозволить по новому оцінити як адаптаційні можливості, так і фізіолого-біохімічні механізми водних тварин в процесі температурної адаптації.

До числа можливих причин і механізмів загибелі риб від високих температур відносять трансформаційні зміни структури мембран, денатурацію білків і їх коагуляцію в результаті нагрівання, термічну інактивацію ферментів, недостатністю кисню, а також відмінністю в температурному коефіцієнті (Q_{10}) для взаємопов'язаних метаболічних реакцій і порушення водно-сольового балансу у риб. У той же час, фізіолого-біохімічні явища та процеси, які протікають безпосередньо в зоні сублетальних величин температур, зазвичай вище 30°C, на межі життєдіяльності гідробіонтів. Але ці питання багато в чому залишаються ще маловивченими [71, 76, 78, 84, 131].

Збільшене навантаження на орган призводить до мобілізації енергетичних і структурних ресурсів організму, їх перерозподілу в бік забезпечення систем, відповідальних за адаптацію до цього чинника. Зростає рівень функціонування певних клітин, які забезпечують терміновий етап компенсаторної адаптації, причому тільки тих, які є найважливішими для виживання в цих умовах. Метаболічний регулятор енергетичних ресурсів бере участь не тільки в забезпеченні термінової адаптації, а й приводить в дію інший, більш складний контур регуляції: включаються нейрогуморальна, імунологічна, метаболічна регуляторні системи організму. Вони контролюють активність генетичного апарату клітини – визначають швидкість синтезу нуклеїнових кислот і білків, необхідних для подолання стресової ситуації. Ця реакція не тільки передуює довготермінової адаптації, а й відіграє важливу роль в її формуванні. Організм набуває додаткових можливостей, які дозволяють йому отримувати максимальну користь з навколишнього середовища [119, 120, 123, 129]. Але

основні регулятивні системи підтримки гомеостазу на ранніх етапах розвитку риб ще не діють.

Як відомо, життєдіяльність водних організмів в значній мірі регулюється впливом зовнішніх чинників через їх постійний контакт з середовищем існування та внаслідок особливостей термодинаміки самих організмів. Мембранні АТФ-ази клітин одними з перших забезпечують формування як первинної відповіді на дію чинників, так і запускають механізми формування довготривалої адаптації [127, 133, 134, 144].

Цікавою є реакція АТФ-аз на коливання температури, які, як відомо значно впливають на метаболізм водних організмів. Так, в низці робіт показано, що синусоїдальні відхилення температури від оптимальних величин суттєво пришвидшує ріст найпростіших, прісноводних водоростей, коловерток, ракоподібних, риб, личинок амфібій [145–148]. Підвищення швидкості росту риб під впливом коливань температури безперечно супроводжується зниженням інтенсивності дихання та деякими іншими метаболічними ефектами. Періодичні синусоїдальні коливання температури в межах екологічної валентності виду не знижують, а підвищують швидкість росту риб, оптимізуючи їх енергетику. Всі ці зміни так чи інакше пов'язані з обміном АТФ [78, 79, 90, 93].

Динаміка вільних амінокислот в тканинах відображає загальні тенденції метаболізму, отже збільшення вмісту вільних амінокислот свідчить про посилення катаболічних процесів і розщеплення білків як джерела енергії або їх використання в адаптивних перебудовах метаболізму. Зниження вмісту вільних амінокислот є свідченням їх утилізації як резервних енергетичних ресурсів організму. Відмічені тенденції, характерні для організму риб в умовах стресу, викликаного негативною дією різних чинників водного середовища. Рівень ліпідів та глікогену відрізняється найбільшою варіабельністю, швидко реагує на сезонні зміни екологічних чинників і відображає фізіолого-функціональний стану організму залежно від річного ритму його життєдіяльності [152–154].

Зародки активно синтезують білки, використовуючи мРНК-матриці, які надходять з двох джерел: мРНК одного класу синтезуються в процесі оогенезу і зберігаються в яйцеклітині до тих пір, поки не використовуються в процесі розвитку; мРНК іншого класу синтезуються в результаті транскрипції, яка відбувається в ядрах самого зародка. мРНК обох класів містять велику кількість послідовностей і транлюються на ранніх стадіях розвитку [155, 158].

Головне призначення великих та різноманітних запасів мРНК в яйцеклітині полягає в тому, щоб дати можливість щойно заплідненій ікринці почати білковий синтез і забезпечити постачання клітини білками, необхідними для складання ядер, мембран та інших субклітинних структур в період швидкого дроблення. Після того як в результаті дроблення виникне достатня кількість ядер, сам зародок стає здатним підтримувати такий рівень синтезу мРНК, який забезпечує синтез білка, необхідного для подальшого розвитку [106, 114, 117, 119, 155].

Na^+/K^+ -АТФ-аза – фермент активного транспорту, вбудований в зовнішню плазматичну мембрану клітини, забезпечує перенесення йонів Na^+ і K^+ проти їх концентраційного градієнта і бере участь в процесах осмотичної і іонної регуляції. Цей фермент є одним з ключових, необхідних для життєдіяльності клітини, оскільки крім безпосередньої функції – створення оптимального внутрішньо клітинного співвідношення йонів Na^+ і K^+ , він може забезпечувати перенесення різних метаболітів, в тому числі цукрів і амінокислот через клітинну мембрану [149–151].

В основі біологічного окиснення, тісно пов'язаного із забезпеченням клітин енергією, лежать реакції за участю дегідрогеназ. Реакції, що каталізуються дегідрогеназами, як правило, зворотні, тому деякі з них беруть участь у відновлювальних біосинтетичних процесах. Так, лактатдегідрогеназа каталізує реакцію взаємного перетворення лактату в піруват. Залежно від напрямку реакції, що каталізується різними ізоферментами, активність ферменту служить індикатором інтенсивності анаеробного метаболізму (переважно в м'язах), індикатором глюконеогенезу – процесу ресинтезу глюкози в печінці або

перетворення лактату в бенкетіват з подальшим його включенням в аеробний метаболізм. Сукцинатдегідрогеназа в циклі Кребса каталізує зворотне окиснення бурштинової кислоти до фумарової. Тому активність дегідрогеназ може служити для діагностики стану організму при захворюваннях або в несприятливих умовах [156, 157, 158].

Клітини нормальної здорової тканини покривають свої енергетичні потреби, перш за все, в процесі дихання і пов'язаних з ним процесах кисневого фосфорилування і лише незначна частина енергії генерується в процесі фосфорилування, яке відбувається під час гліколізу. Збільшення активності лактатдегідрогенази може свідчити про посилення гліколізу і відповідно накопичення його продукту – молочної кислоти. В результаті зміщення реакції в сторону цього продукту, відбувається зменшення вмісту піровиноградної кислоти, яка б в подальшому могла б окиснитись в циклі трикарбонових кислот. Зміна співвідношення СДГ/ЛДГ в бік збільшення лактатдегідрогеназної і зменшення сукцинатдегідрогеназної активності свідчить про витіснення окисно-відновних процесів анаеробними. Утворена молочна кислота не може далі окиснюватися мітохондріями до тих пір, поки знову не піддається окисненню до піровиноградної кислоти за рахунок НАД, що знаходиться в цитоплазмі. Гальмування утворення високоенергетичних сполук в циклі Кребса призводить до збільшення гліколізу [158, 160–162].

Відомо, що зі зміною температури води нижче оптимальної активність метаболічних процесів значно сповільнюється, відбувається генерування енергії та активація процесів гліколізу, насамперед лактатдегідрогенази (ЛДГ), яка є одним із ферментів гліколізу, показники активності якої використовуються для визначення рівня анаеробного обміну [39, 163, 164].

Стратегія змін активності ЛДГ під час холодової аклімації в літній період принципово відрізняється від сезонних змін її активності. При настанні холодної пори року в червоних м'язах активність ЛДГ підвищується, залишаючись практично незмінною в білих м'язах [165]. Цю особливість білих м'язів пояснюють тим, що в них здійснюється переважно анаеробний спосіб

енергообміну, тому ізоформа ЛДГ, що бере участь у гліколітичному процесі, характеризується високою активністю незалежно від пори року [166].

Проте при раптовому й різкому зниженні температури організм не встигає переключити свої системи на оптимальне функціонування в змінених умовах, внаслідок чого спостерігаються різноманітні фізіологічні й біохімічні порушення, які надалі можуть привести до загибелі [167].

Протеази, які гідролізують пептидні зв'язки в білках та пептидах, відіграють важливу роль в травленні риб різних екологічних груп, в зв'язку з тим що в їжі більшості видів риб домінують білки та інші компоненти білкової природи [168].

Відомо, що у відповідь на зміну складу їжі активність протеаз може змінюватись. Більшість видів риб можуть змінювати спектр кормів протягом онтогенезу. Незалежно від подальшої харчової спеціалізації, більшість видів риб проходять наступні етапи зміни основних джерел харчування: 1) ендогенне харчування за рахунок запасів жовточного мішка; 2) змішане харчування за рахунок залишків жовточного мішка та харчування зовнішнім кормом; 3) повністю екзогенне харчування зовнішніми кормами [169, 170].

У мальків коропа (*Cyprinus carpio*) протеолітична активність значно підвищується при збільшенні кількості природного корму в раціоні. В білого амура (*Ctenopharyngodon idella*) відмічено значне зменшення активності трипсину по мірі росту риби, оскільки з дворічного віку амури переходять на харчування рослинністю. Найбільша активність протеаз в організмі риб співпадає в часі з піками інтенсивного харчування. При дослідженні добової динаміки протеолітичної активності в організмі личинок та мальків верховодки (*Alburnus alburnus*) та плітки (*Rutilus rutilus*) показано, що найбільша активність протеаз в організмі дослідних видів риб спостерігалась в 9 год. ранку, мінімальна – в денні години, що повністю співпадає з індексами наповнення кишечника. Збільшення або зменшення активності ферментів також в значній мірі пов'язано з анатомічними та фізіологічними змінами личинок в період метаморфозу [171–174].

Генетичні зміни в соматичних клітинах є інтегральним показником порушення гомеостазу. Вони характеризують наявність мутагенів середовища та ефективність реакції імунної відповіді організму. В нормі більшість генетичних порушень елімінуються. Наявність таких порушень є індикатором стресу, який веде до появи аномальних клітин та зниження імунного статусу організму. Такі порушення можуть бути виявлені на хромосомному рівні. Високочутливі методи, базуються на оцінці структурних та кількісних змін хромосом в соматичних клітинах, включаючи мікроядерний тест, облік сестринських хроматичних обмінів, хромосомних аберацій, забезпечують характеристику стресового стану організму [175].

Мікроядерне тестування відноситься до числа найбільш важливих і відносно швидких тестів, що використовуються для комплексного біологічного моніторингу динаміки водних екосистем. Цей метод дозволяє визначити дію різних токсикантів на структуру хромосоми та виявити генетичні зміни в однієї особини або групи особин.

Розробку мікроядерного тесту як правило пов'язують з ім'ям Schmid, хоч він був запропонований майже одночасно в 1970–1973 рр. декількома групами вчених. Метод швидко отримав визнання і до 1990 р. налічувалось не менше 800 робіт по мікроядерному тесту. В 1998–2000 рр. кількість досліджень, виконаних з використанням мікроядерного тесту нараховувало 5–7 тис. та продовжує зростати швидкими темпами [176, 177, 178, 179].

Мікроядра в основному утворюються в результаті порушення розходжень хромосом. Один з шляхів формування мікроядер – порушення процесів поділу клітини з відділенням цілих хромосом або їх фрагментів. Ядро спочатку формує лопать, яка потім відділяється і утворює мікроядра. Низкою авторів висунуто припущення, що не мітотичне утворення мікроядер – це шлях утилізації дефектного хроматину [176, 179, 180].

Аналіз літературних даних показав, що ефектам циклічних змін температури, кількості кисню в воді та рН на різні сторони біології риб було присвячено багато робіт, в тому числі і в останні роки [71, 78, 81, 82, 98, 117],

то ефекти аритмічних змін температури досліджувалися рідко. Відомо, що організми як в природних, так і в антропогенно змінених водних системах, можуть піддаватися швидким, а іноді непередбачуваним коливанням температурного та кисневого режимів. Це відноситься і до організмів пелагіалі, де відбуваються щоденні добові вертикальні міграції, і до організмів літоралі, які схильні до великих добових коливань температури [118, 119].

Слід зауважити, що для більшості домінуючих видів не вивчені реакції на різкі, нециклічні впливи температури, не визначені величини верхньої температурної межі толерантності, не досліджена залежність цих величин від температурних умов існування і можливий їх зв'язок з температурами нормальної життєдіяльності та оптимальними температурами. До теперішнього часу практично не вивчено і ефекти післядії температурного чиннику середовища, коли реакція організму, популяції триває або починає проявлятися після завершення його впливу.

Клітинні механізми резистентності гідробіонтів до температури на сьогоднішній день залишаються вкрай недостатньо дослідженими. Є лише кілька робіт в цьому напрямку. Тим не менше, проблема вивчення специфіки цих механізмів у риб у зв'язку з можливим негативним впливом глобальних кліматичних змін на сьогоднішній день вимагає подальшого вивчення [71, 76, 78, 84, 131].

Виходячи з вищезгаданого, метою наших досліджень є визначити вплив абіотичних чинників водного середовища та їх коливання на ранні етапи розвитку ембріонів риб, оцінити ступінь їх дії за анатомічними, морфологічними, біохімічними та генетичними показниками.

Реалізація мети здійснювалася вирішенням наступних завдань:

1. Встановити та систематизувати основні анатомічні ознаки ембріопатій риб за дії природних та абіотичних чинників;
2. Вивчити залежність між життєздатністю та наявністю патології ембріонів і дією ушкоджуючих чинників;

3. Визначити вплив на генетичний апарат температурного, газового та інших абіотичних чинників за показниками кількості мікроядер в клітинах ембріонів на різних стадіях розвитку та личинок коропових та окуневих видів риб;
4. Вивчити зміни величин фізіолого-біохімічних показників ембріонів та личинок риб за дії абіотичних чинників водного середовища;
5. Дослідити адаптивні реакції ембріонів та личинок риб на зміну чинників навколишнього середовища.

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України протягом 2013–2016 рр. Біологічним матеріалом досліджень були ікра, ембріони та личинки окуня річкового (*Perca fluviatilis* L.), плітки (*Rutilus rutilus* L.), йоржа звичайного (*Gymnocephalus cernuus* L.), коропа (*Cyprinus carpio* L.) та плідники (3–4 річного віку) краснопірки (*Scardinius erythrophthalmus*, L.). Саме ці види риб є представниками місцевої іхтіофауни. Як найбільш чутливі тест-об'єкти для вивчення дії абіотичних чинників водного середовища досліджували ікру, ембріони і личинки білого амура (*Ctenopharyngodon idella* Val.) та білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.)

2.1. Методика постановки експериментів

Нами було відібрано три водойми (ставки), які через особливості свого розташування та ступеню затінення відрізнялися за температурними умовами, а завдяки цьому і кисневим режимом. Це особливо важливо оскільки через кліматичні зміни саме ці показники будуть найбільш мінливі. Температуру води вимірювали ртутним термометром протягом доби о 4, 12 та 20 год. і по мірі проходження ембріональних стадій розвитку піддослідних риб. Вміст розчиненого кисню вимірювали о четвертій годині ранку методом Вінклера [179]. Всі дослідні водойми наповнювалися водою з р. Рось, яка характеризувалась наступними гідрохімічними показниками (табл. 2.1).

Дослідження проводили протягом квітня-травня, в той час коли відбувається нерест окуня, плітки, коропа та йоржа у природних водоймах, та протягом червня, коли відбувався нерест білого амура та білого товстолобика. Штучно запліднену ікру піддослідних видів риб розміщували в сітчасті контейнери ($S_{\text{конт.}}=169 \text{ см}^2$) у водоймі. Ікру всіх видів риб відбирали від трьох різних самок і в трьох повторностях розміщували в водоймах. Середня

кількість ікринок в кожному сітчастому контейнері досягала 100–150 ікринок. По досягненню ікрою певних стадій розвитку – кінець гастрюляції, очні бокали, пігментації для коропа або рухливого ембріону для білого амура та білого товстолобика її відбирали та заморожували в морозильній камері при -18°C . Після закінчення нересту риби зібрані проби пакували в портативну морозильну сумку оснащену холодowymi елементами та транспортували в лабораторію для подальших біохімічних досліджень. Для цитологічних досліджень ікру на різних стадіях розвитку та личинок піддослідних видів риби фіксували в розчині Карнуа, через декілька діб промивали 70% етиловим спиртом (1,5–2 год.) та в другій зміні спирту (70%) зберігали в холодильнику для подальших досліджень.

Таблиця 2.1.

Гідрохімічні показники води дослідних водойм

Величина	Показник	Одиниці вимірювання
O_2	8,4–9,7	мг/дм ³
pH	8,3	
твердість	6,1	мг-екв./дм ³
Ca^{2+}	3,3	мг-екв./дм ³
Mg^{2+}	2,8	мг-екв./дм ³
Cl^-	0,85	мг-екв./дм ³
NH_4^+	0,277	мг N/дм ³
NO_2^-	0,006	мг N/дм ³
NO_3^-	0,080	мг N/дм ³
PO_4^{3-}	0,062	мг P/дм ³
ПО	8,0	мг O/дм ³
БО	18,48	мг O/дм ³

2.2. Цитогенетичні методи досліджень

Для проведення цитогенетичного аналізу зразки ікри риби фіксували в двох змінах свіже приготованої та охолодженої суміші етилового спирту і оцтової кислоти (3:1) по 30 хв. кожна в об'ємі, який в 50–100 раз перевищує об'єм фіксованого матеріалу.

Для аналізу з кожного зразка брали 10–15 ікринок. Механічна мацерація продовжувалася 5–10 хв., хімічна в 45% розчині оцтової кислоти – 40–50 хв. Повітряно-сухі препарати фарбували 50% розчином нітрату срібла в термостаті при 58–60°C протягом 5–6 хв. до отримання коричневого кольору, дофарбовували 2% розчином Гімза в фосфатному буфері (рН=6,8) протягом 1 хв. [206, 207].

Число ядерець підраховували у кожного зразка у 500–700 клітин з використанням окулярів $\times 16$, об'єктивів $\times 100$ мікроскопа (CarlZeiss) та вимірювали діаметр ядерець окуляр-мікрометром у 100 клітин при тому же збільшенні об'єктиву [187].

2.3. Біохімічні методи досліджень

Активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) визначали з використанням набору реактивів «ЛДГ» (Філісіт–Діагностика, Україна). Активність сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.5.1) – за Вексеем [182].

Активність Na, K-активуємої, Mg-залежної АТФ-ази (КФ 3.6.1.4) встановлювали за приростом вмісту неорганічного фосфору в середовищі інкубації за методом М.Н. Кондрашової та ін. [184, 185]. Інкубаційне середовище (1 см³ розчину) містило NaCl 100 мкмоль, KCl – 20 мкмоль, MgCl₂ – 5 мкмоль, трис–HCl (рН 7,4) – 50 мкмоль. В середовище додавали 0,1 см³ 3 молярного розчину АТФ–Na₂ на 50 молярному буфері трис–HCl (рН 7,4). АТФ-азну активність розраховували в мкмольях Р/мг білку $\times$ год.

Активність протеаз (КФ 3.4) встановлювали імуноферментним методом за Тюриною та ін. [186].

Вміст глікогену (мг/г) – за допомогою антронового реагенту, вміст загальних білків (мг/г) – по Лоурі [183, 184], вміст ліпідів (мг/г) визначали використовуючи стандартні комерційні набори «Загальні ліпіди» (Філісіт–Діагностика, Україна).

Отримані дані оброблені статистично за допомогою програми Statistica 5.5, Epa probit analysis program used for calculating LC/EC values (Version 1.5).

РОЗДІЛ 3 ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ВИЖИВАННЯ, РОЗВИТОК І ЦИТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОНІВ ТА ЛИЧИНОК РИБ

3.1. Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на виживання та розвиток коропових риб

Відомо, що температурний чинник впливає на метаболізм, формоутворення, темп індивідуального розвитку, визначає тривалість етапів в ембріогенезі риб [188, 189]. Процеси метаболізму у риб відбуваються в специфічних температурних межах та специфічному оптимумі для кожного виду [193]. Кращі результати проходження ембріогенезу риб отримують тоді, коли в першій його половині діють низькі температури, а в другій половині – підвищені, але не виходячи за межі оптимальних. Низькі температури оптимальної зони сприяють збільшенню росту зародків риб, а підвищені дещо знижують процеси росту, але прискорюють розвиток зародка. Відмічено, що з підвищенням температури води раніше настає пульсація серця зародка та спостерігається вища швидкість його пульсації. Зростання температури, особливо під час формування залоз вилуплення, обумовлює вихід ембріонів з оболонок на більш ранніх стадіях розвитку [190, 191, 192].

Нами були проведені дослідження з визначення впливу різних температурних умов на ембріональний розвиток коропових риб. При цьому температура води в дослідних водоймах істотно коливалася протягом доби, а в передранкові години при підвищеній температурі знижувалася концентрація розчиненого кисню у воді.

Запліднена ікра підлягала впливу різних температурних та кисневих режимів. Для порівняння частина ікри знаходилась в стаціонарних умовах (р. Рось) з досить постійною температурою води та концентрацією кисню (умовний контроль).

Під час проведення досліджень на ікрі коропа середньодобова температура води відрізнялася між дослідженими водоймами на 0,5–0,8°C (рис. 3.1.1). При

цьому в ранкові та вечірні години різниця за температурою збільшувалася на 1,0–1,2°C. Протягом досліджень спостерігалось коливання температури води у всіх водоймах від 19,3 до 29,4°C. В стаціонарних умовах температура води перебувала на рівні 22,0–22,5°C.

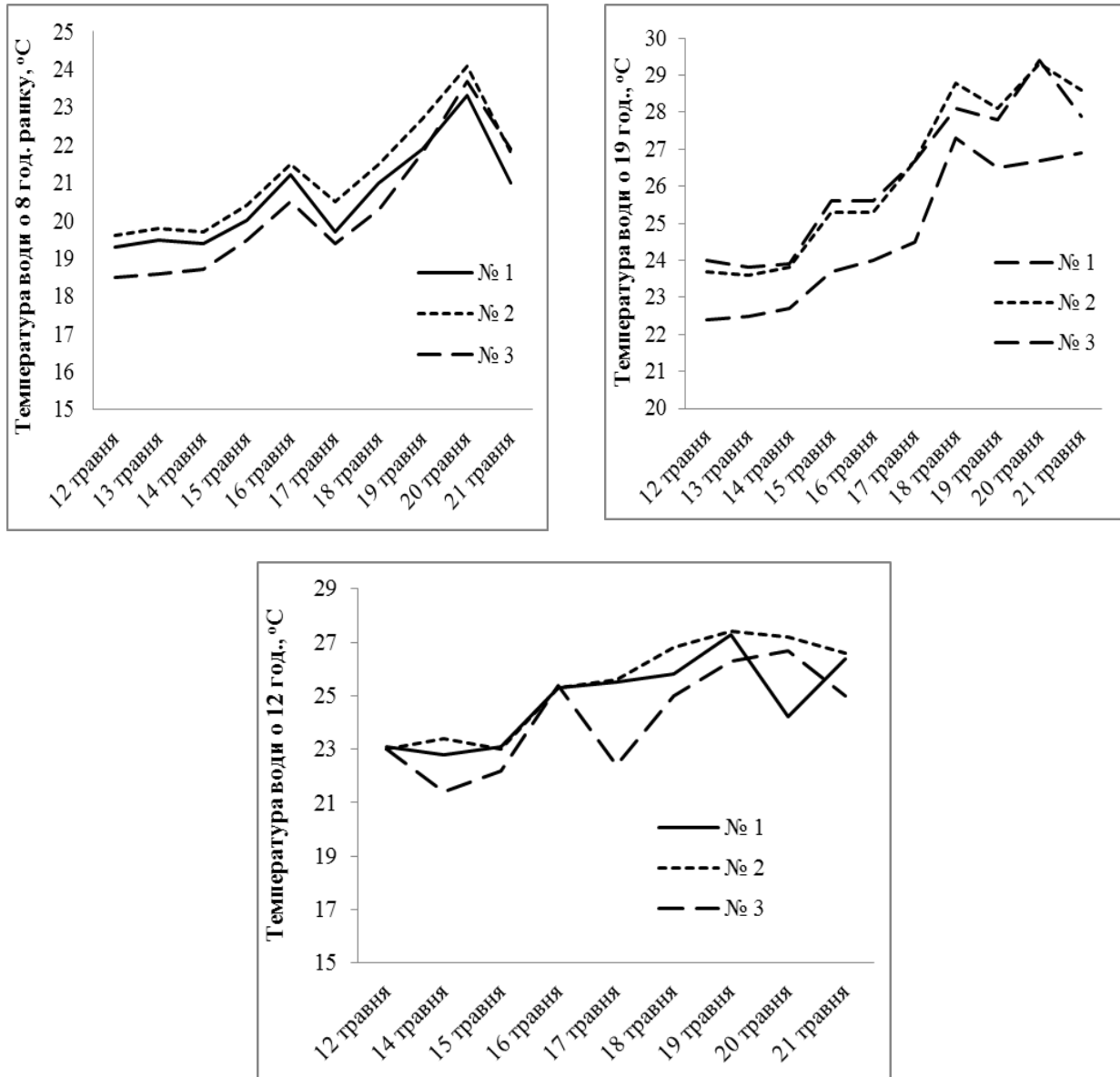


Рис. 3.1.1. Температура води у досліджуваних водоймах під час спостереження за розвитком ікри коропа.

Примітка: № 1, № 2, № 3 – досліджувані водойми.

Середня температура води вранці була у водоймі № 1 – 20,6°C, № 2 – 21,1°C, № 3 – 20,2°C, у вечір: № 1 – 26,3°C, № 2 – 26,4°C, № 3 – 24,7°C.

У найбільш прогрітій водоймі на 4 год. ранку на нерестовищах відмічалось суттєве зниження вмісту кисню у воді до 2,5–3,6 мг/дм³ (температура води –

19,6–24,1°C) (рис. 3.1.2). У водоймі з середнім температурним режимом вміст кисню знижувався до 2,7–4,1 мг/дм³ (температура води – 19,3–23,3°C). У помірно прогрітій водоймі вміст кисню не був нижчим за 4,5–5,6 мг/дм³ (температура води – 18,5–23,7°C). В стаціонарних умовах вміст кисню у воді був на рівні 7,5–10,2 мг/дм³.

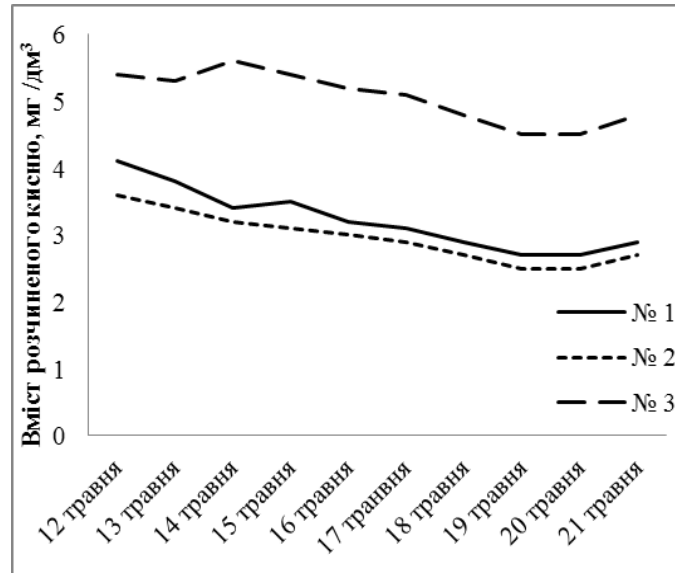


Рис. 3.1.2. Вміст розчиненого кисню у воді о 4 годині ранку.

Примітка: та ж, що на рис. 3.1.1.

Через істотну різницю у температурному режимі змінювалась швидкість ембріональних стадій розвитку коропа. Під час масового вилуплення передличинок в стабільних як температурних, так і кисневих умовах, на природних нерестовищах зародки знаходилися на стадії рухливого ембріону (вищій температури води) або початку пігментації очей, відділення хвостового стебла (середній та нижчий температурний режим). Затримка розвитку ікри за цих умов була на 20–24 год. Таким чином, через коливання температури води протягом доби, не дивлячись на те, що загальна сума тепла була вищою на експериментальних нерестовищах, ніж у стабільних умовах, спостерігалось уповільнення швидкості ембріональних стадій коропа. Навіть не суттєва середньодобова різниця між дослідними водоемами у 0,5–0,8°C призводить до істотного уповільнення ембріогенезу риб на 4–6 год.

Ікра коропа досить сприятливо витримує передранкове зниження вмісту розчинного кисню у воді. Виживання ікри знижувалася на 6,7–10,5% за першу добу та 8,8–19,3% на другу добу порівняно з стаціонарними умовами (рис. 3.1.3).

По закінченню масового вилуплення загибелі нормально розвинутих передличинок не спостерігалось, відмічалася загибель лише аномальних личинок.

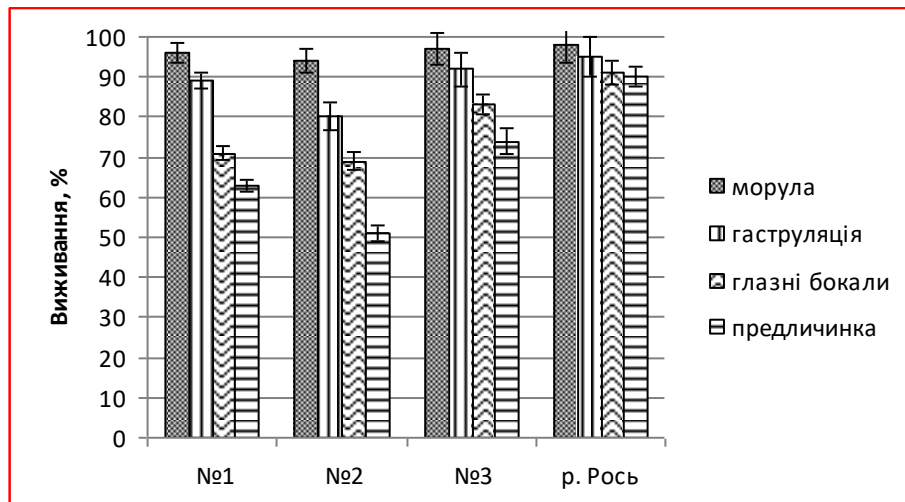


Рис. 3.1.3. Виживання ембріонів коропа за різних умов.

Примітка: № 1, № 2, № 3 – водойми.

В найбільш прогрітій водоймі за умов зниження концентрації розчиненого кисню для коропа спостерігалось підвищення кількості аномальних зародків (рис. 3.1.4.).

Були встановлені основні види ембріопатій:

1. Викривлення хребта (до 68% від загальної кількості всіх аномалій);
2. Водянки внутрішніх органів та тканин (до 13%);
3. Недостатня кількість міомерів (до 8%);
4. Нестандартна форма жовткового мішка (до 7%);
5. Повна відсутність жовткового мішка (до 2%);
6. Недорозвиненість головного відділу зародків (до 2%).

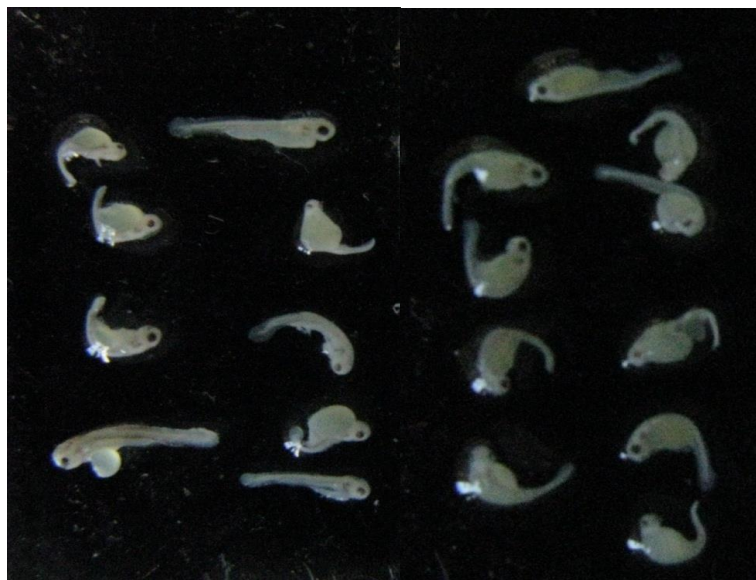


Рис. 3.1.4. Аномальні передличинки коропа при зростанні температури оточуючого середовища.

Таким чином, отриманими результатами було доведено, що різкі коливання температури протягом доби та перевищення її рівня за норму, зниження кисневого режиму виступають потужними тератогенними чинниками. Також нами відмічено істотну різницю довжини та маси передличинок з водойм, які характеризувалися різним температурним режимом. Так, при температурі води $21,4^{\circ}\text{C}$ середня довжина личинок була $7,4\text{ мм}$, а маса $1,2\text{ мг}$ (табл. 3.1.1). Для цих личинок характерним є більш швидкий ембріональний розвиток. В найбільш прохолодній водоймі середня довжина передличинок досягала $9,4\text{ мм}$, а маса – $1,5\text{ мг}$ ($20,6^{\circ}\text{C}$). При цьому виживання ембріонів в різних водоймах відрізнялося не істотно. Безперечно, такі суттєві масо-розмірні відмінності між личинками не можуть не позначитися на їх життєздатності на наступних стадіях розвитку [232, 233].

Нами відзначено вірогідну залежність між масою передличинок та температурними умовами досліджуваних водойм (рис. 3.1.5, 3.1.6).

Також відмічено суттєву різницю за масою передличинок коропа при температурі води $20,4\text{--}21,6^{\circ}\text{C}$ та при $22,0\text{--}22,7^{\circ}\text{C}$, що свідчить в більшій мірі про фізіологічний стан самих плідників коропа за різних температурних умов.

Ікра пізно нерестуючих самиць коропа відрізнялася більшою масою та розмірами.

Таблиця 3.1.1.

Маса личинок коропа та їх виживання за різного температурного режиму.

Середня температура води, °C	Маса личинок, мг			Виживання личинок за весь період, %	
	M	m	t _{st}	M	m
Початок травня					
20,6	1,49	0,02		79,2	1,2
21,2	1,31	0,02	6,36	72,1	3,1
21,4	1,20	0,03	3,05	68,7	2,7
Кінець травня					
22,1	1,64	0,03		83,1	2,4
22,4	1,49	0,03	5,00	76,5	1,8
22,6	1,37	0,02	3,33	74,2	2,7

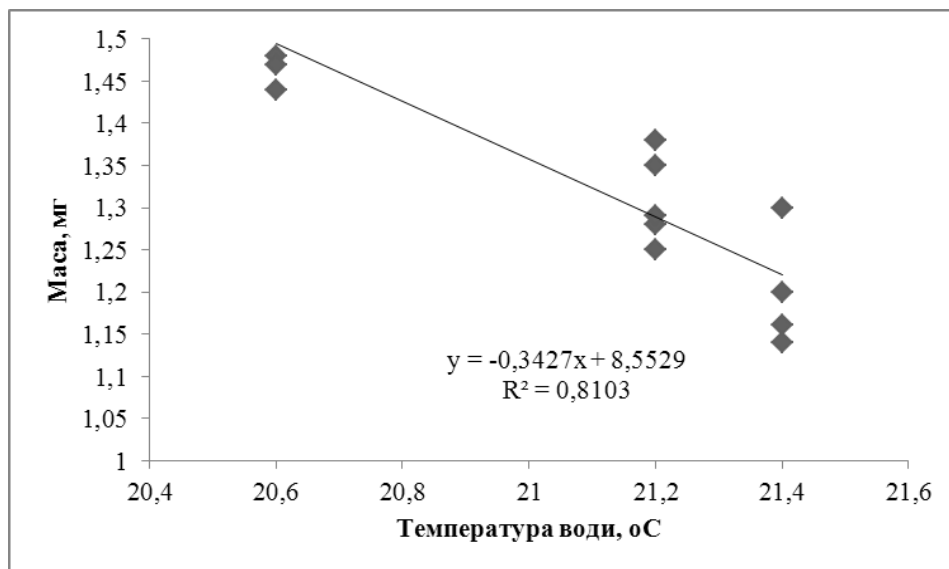


Рис. 3.1.5. Залежність між масою личинок коропа та температурою оточуючого середовища (20,4–21,6°C).

Аналогічні дослідження були проведені і з ікрою рослиноїдних риб – білого товстолобика та білого амура, як менш витривалих до дії абіотичних та антропогенних чинників.

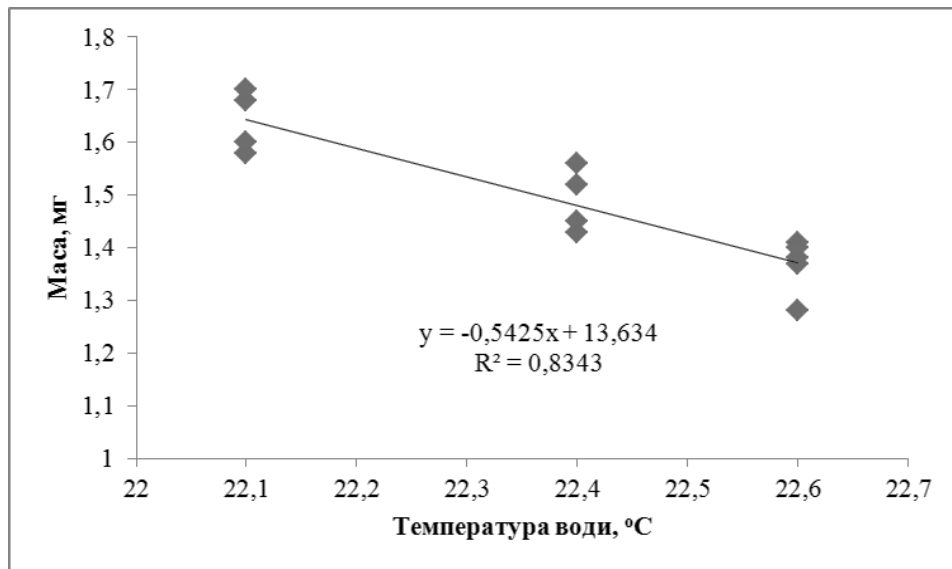


Рис. 3.1.6. Залежність між масою личинок коропа та температурою води (22,0–22,7°C).

Під час проведення досліджень з розвитку ікри рослиноїдних середньодобова температура води відрізнялася між досліджуваними водоймами на 0,3–2,3°C (рис. 3.1.7). При цьому в ранкові та денні години різниця за температурою збільшувалася до 4,1–6,1°C. Протягом досліджень спостерігалось коливання температури води у всіх водоймах від 21,5 до 31,4°C. В стаціонарних умовах температура води трималася на рівні 22,0–23°C.

Середня температура води вранці була у водоймі № 1 –21,8°C, № 2–21,5°C, № 3 – 21,2°C, о 12 годині: № 1 –27,2°C, № 2 – 27,6°C, № 3 – 25,3°C.

У найбільш прогрітій водоймі на 4 год. ранку на нерестовищах відмічалось суттєве зниження вмісту кисню у воді до 3,4–3,7 мг/дм³ (температура води – 24,2–25,7°C) (рис. 3.1.8). У водоймі з середнім температурним режимом вміст кисню знижувався до 3,9–4,4 мг/дм³ (температура води – 21,7–22,3°C). У помірно прогрітій водоймі вміст кисню не був нижчим за 4,8–6,2 мг/дм³ (температура води – 20,4–21,8°C). В стаціонарних умовах вміст кисню у воді був на рівні 7,8–8,4 мг/дм³.

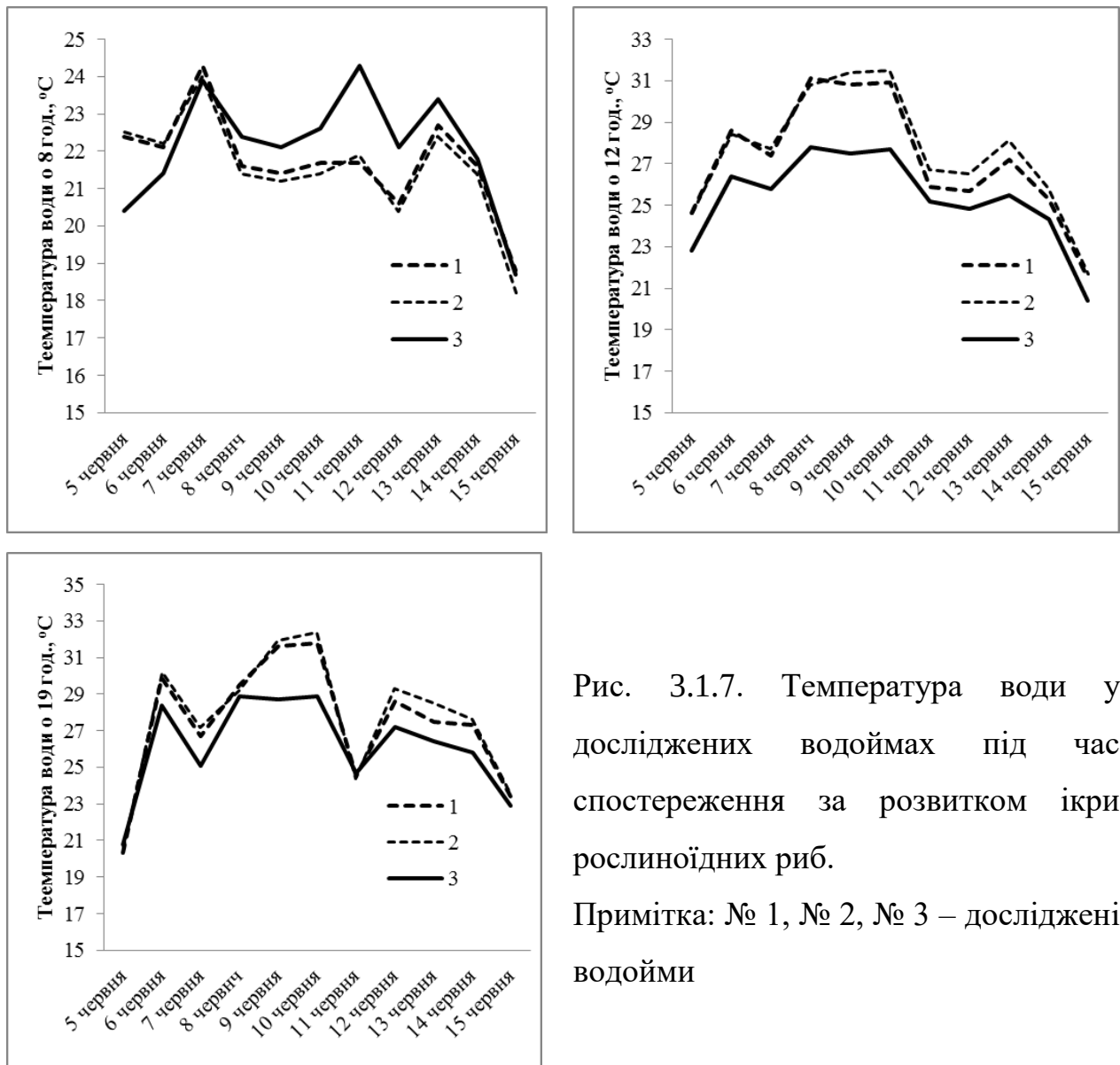


Рис. 3.1.7. Температура води у досліджених водоймах під час спостереження за розвитком ікри рослиноїдних риб.

Примітка: № 1, № 2, № 3 – досліджені водойми

Рослиноїдні риби характеризуються прискореним ембріональним розвитком, а весь ембріогенез в середині оболонки триває протягом 32–36 год. Передличинки менш розвинені, ніж у коропа, у них відсутні формені елементи крові і слабо розвинена кровоносна система. В стабільних екологічних умовах (р. Рось) ембріональний розвиток відбувався швидше, ніж при більш широкому діапазоні коливань екологічних чинників у природних водоймах. При цьому сума тепла за період інкубації ікри була вищою у дослідних водоймах. У більш прогрітих водоймах ембріональний розвиток дослідних видів риб був прискорений порівняно з іншими піддослідними водоймами. Але на відміну від коропа ембріональний розвиток рослиноїдних риб затримувався не більше ніж 4–6 год., що пояснюється досить нетривалим часом всього ембріонального

розвитку цих риб. При затримці розвитку оболонки ікринок частково руйнувалися через передчасне виділення ферментів їх розчинення.

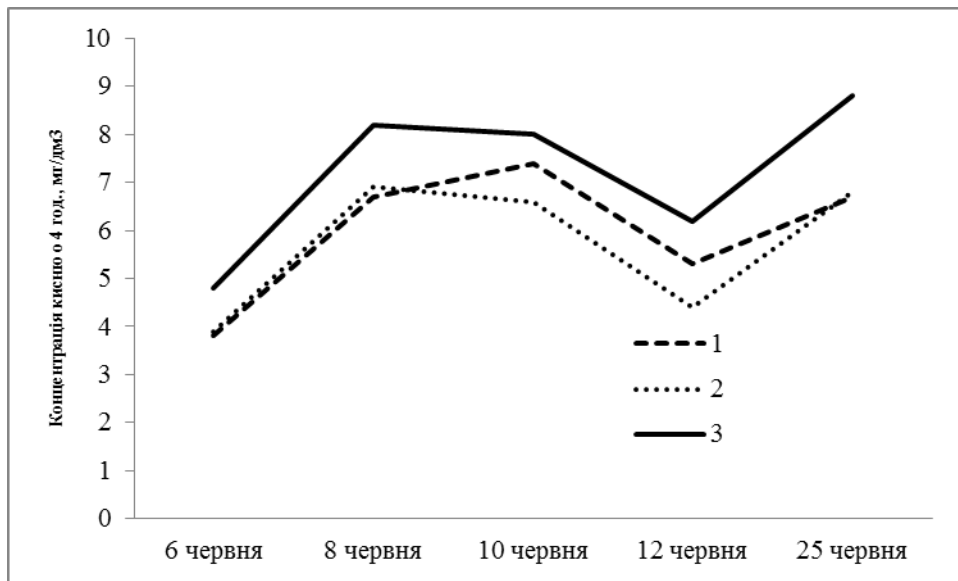


Рис. 3.1.8. Вміст розчиненого кисню у воді о 4 годині ранку під час спостереження за розвитком ікри рослиноїдних риб.

Ікра білого товстолобика та білого амура негативно реагувала на передранкове зниження вмісту розчинного кисню у воді менш за $4,0 \text{ мг/дм}^3$, повністю порушувався ембріональний розвиток цих риб, а аномальні зародки складали 100%. При зменшенні концентрації кисню у воді нижче за $3,5 \text{ мг/дм}^3$ ембріони повністю гинули.

При коливанні та підвищенні температури води за нормальних кисневих умов спостерігалось зниження життєздатності ембріонів рослиноїдних риб на 8,5–12,5% під час стадії гастрюляції та на 9,4–21,1% протягом очних бокалів порівняно з контролем (рис. 3.1.9–3.1.10).

Нами не відмічено істотної різниці за довжиною та масою передличинок з досліджуваних водойм. Проте, при перевищенні оптимальних величин температур в водоймах спостерігалось підвищення кількості аномальних зародків білого товстолобика та білого амура (рис. 3.1.11).

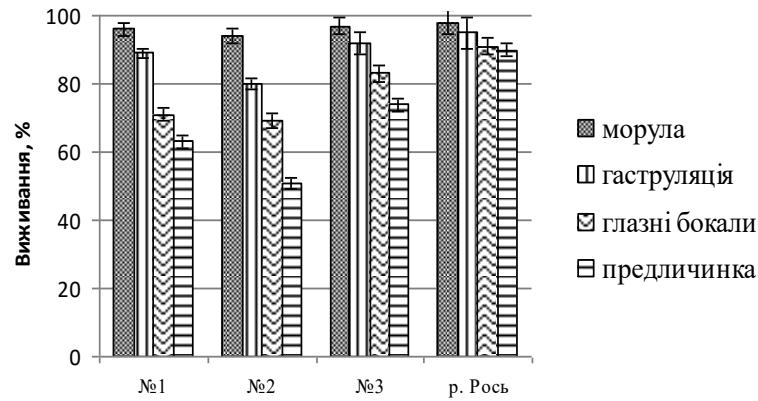


Рис. 3.1.9. Вживання ембріонів білого товстолобика за різних умов.
Примітка: № 1, № 2, № 3 – водойми

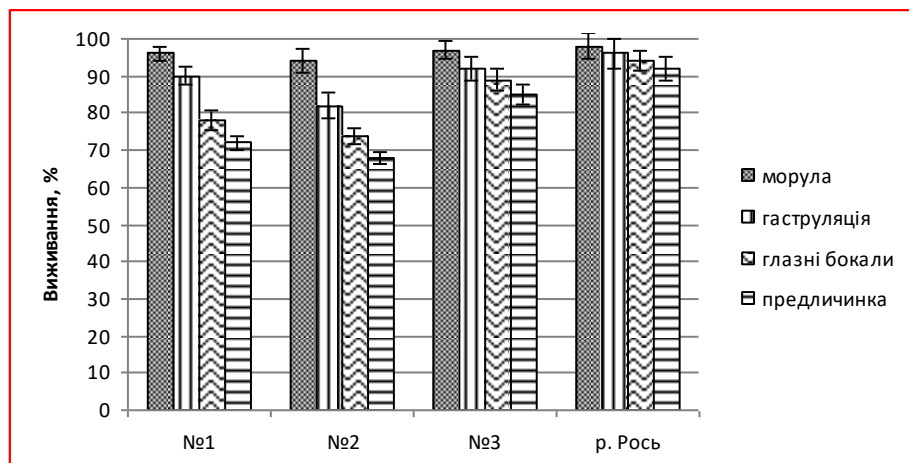


Рис. 3.1.10. Вживання ембріонів білого амура за різних умов
Примітка: № 1, № 2, № 3 – водойми.

В найбільш прогрітій водоймі при температурі води 28,2–31,5°C аномальний розвиток ембріонів рослинорідних риб зростає до 82% від загальної чисельності зародків, в водоймі з дещо нижчим температурним режимом 27,4–30,4°C – до 65%, в помірно прогрітій водоймі (26,4–27,7°C) – до 43%. В стаціонарних умовах у межах оптимуму для рослинорідних риб кількість виникнення аномалій в розвитку ембріонів була на рівні 5–10% (в окремих випадках не більше 15%). Безперечно, ми спостерігаємо комплексну дію екологічних умов водойми, зокрема значних коливань температури води протягом доби, перевищення оптимальної температури в денні часи та значного зниження вмісту розчиненого кисню у ночі та передранкові години. Саме такі

зміни будуть характерними для природних нерестовищ риб за умов подальшого потепління клімату.

Як і для коропа, так і для рослиноїдних риб найбільш характерні такі основні види ембріопатій:

1. Викривлення хребта (до 68% від загальної кількості всіх аномалій);
2. Водянки внутрішніх органів та тканин, в першу чергу, головного відділу та перикарду (до 13%);
3. Недостатня кількість міомерів (до 8%);
4. Нестандартна форма жовткового мішка (до 7%);
5. Повна відсутність жовткового мішка (до 2%);
6. Недорозвиненість головного відділу зародків (до 2%).

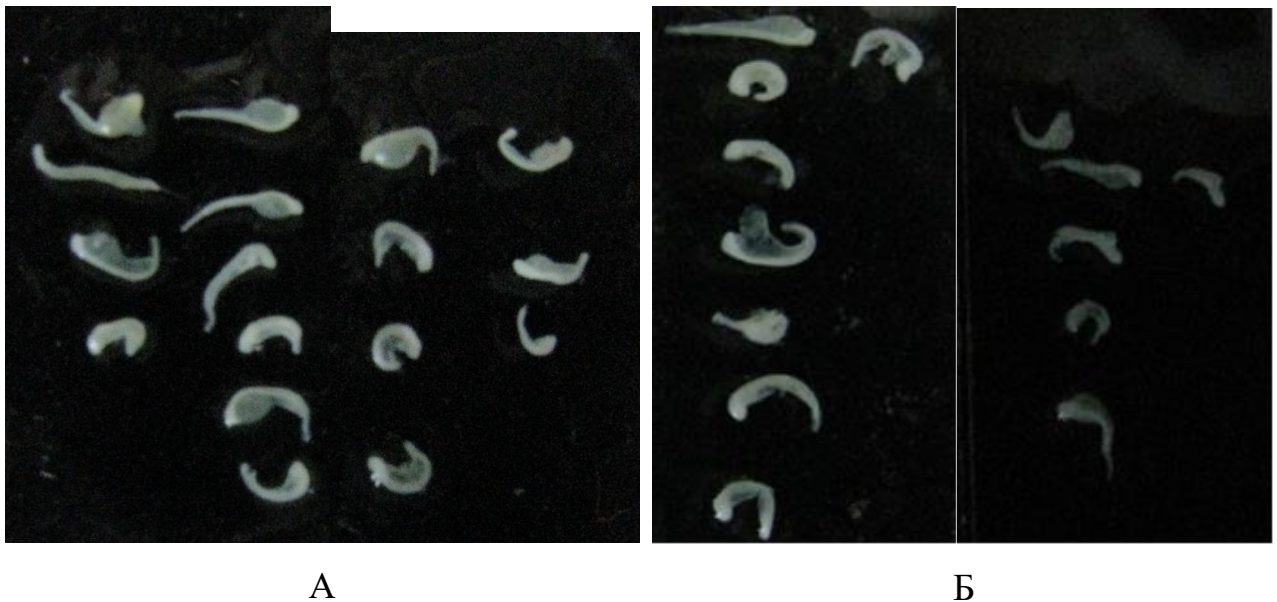


Рис. 3.1.11. Аномальні передличинки білого амура (А) та білого товстолобика (Б).

При цьому для рослиноїдних риб більш характерна порівняно з коропом наявність декількох аномалій одночасно. Для ембріонів цих видів риб тератогенний вплив абіотичних чинників значно посилюється. Ембріони коропа, як менш аерофільні, ніж рослиноїдні риби, більш стійкі до дії несприятливих чинників водного середовища. Вживання ембріонів коропа за перевищення температурного режиму знижувалося на 22,8%, білого амура – на 46,9%, білого товстолобика – на 80,8% порівняно до контролю [231, 232, 233, 239, 244].

При різкому підвищенні температури води (в денний час доби) більше 33°C та зниженню рівня кисню менш за 3,5 мг/дм³ (в нічний час доби) загибель ембріонів рослиноїдних риб становила 100%.

Безсумнівно, вплив абіотичних чинників позначається не лише на життєздатності ембріонів, їх морфологічних ознаках. Саме, порушення метаболічних процесів, особливо у змінах активності ферментативних реакцій, призводять до аномального розвитку риб. Ці питання будуть розглянуті у подальших розділах дисертації.

3.2 Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на цитологічні показники ембріонів та личинок риб.

В силу різних причин організм може опинитися у стресовому стані, що може призвести до порушень стабільності його розвитку в межах екологічних оптимумів, які забезпечують реалізацію загальної програми формування фенотипічних ознак [199]. За несприятливих умов в ембріональних клітинах порушуються процеси їх поділу, які можна простежити за мікроядерним тестом.

Мікроядерне тестування – один з ефективних методів, який дозволяє визначити сумарну дію токсинів та інших чинників середовища на структуру хромосом та виявити генетичні зміни у конкретної особини. Хронічна дія несприятливих чинників на організм призводить до порушень цитогенетичної стабільності та накопиченню хромосомних аномалій в клітинах організму [177].

Частоту хромосомних порушень та їх наслідків (утворення мікроядер) в сучасних дослідженнях широко використовують для оцінки порушень цитогенетичного стану організмів в природних популяціях в просторі та часі [200]. В практичному плані аналіз цитогенетичного гомеостазу вважається важливим для проведення еколого-генетичного моніторингу, що включає в собі оцінку можливих змін стану природних популяцій та виявлення наслідків різного роду антропогенного впливу. Використання цитогенетичного підходу

при вирішенні цих завдань вважається перспективним як для характеристики генотоксичності середовища, так і для оцінки фізіологічного стану організму [199, 177, 178, 201].

Мікроядра – це невеликі ДНК-вмісні тільця, існуючі в клітині окремо від основного ядра або зв'язані з ним хроматиновим мостом. Відомо, що мікроядра є невеликі утворення, які складаються з хромосом. На стадії телофази ці фрагменти можуть включатися в ядра дочірніх клітин або утворювати одне чи багато мікроядер в цитоплазмі. Великі мікроядра формуються при патологічних мітозах, що обумовлено відставанням окремих хромосом в метафазі та в анафазі, тоді як дрібні мікроядра зустрічаються переважно при структурних абераціях хромосом [202–205].

Для визначення впливу екологічних чинників водного середовища на ембріони та личинки різних видів риб ми використовували найбільш чутливі та інформативні ядерцеві характеристики.

В проведених дослідженнях визначали вплив екологічних чинників водного середовища на генетичний апарат ембріонів коропа, білого амура, білого товстолобика, окуня, плітки та йоржа. Ембріони фіксували протягом всього ембріогенезу на стадіях – дрібноклітинна морула, кінець гастрюляції, очні бокали та пігментація очей. Личинки відбирали на першу, другу, третю та четверту добу розвитку.

Під світловим мікроскопом визначали всі показники, які характеризують активність ядерця: відсоток клітин з різною кількістю ядерця, середню їх кількість в клітині, розмір (діаметр).

Короп. На ранніх стадіях ембріогенезу (дрібноклітинна морула–кінець гастрюляції) залежно від різних умов середовища мікроядра в усіх досліджених риб не перевищували межі норми (1–2). Це можна пояснити більшою стійкістю ікринки на ранніх стадіях розвитку до змін навколишнього середовища, а цитогенетичний вплив екологічних чинників ще не проявився. Цього не спостерігалось на пізніх стадіях ембріогенезу (очні бокали–пігментація очей) та

в личинок, де цей показник чітко реагував на зміни температури та насичення води киснем.

За оптимальних екологічних умов водного середовища у їх клітинах ембріонів, які були на пізніх стадіях розвитку, та у личинок коропа містилося в основному по два ядра (до 89%), рідше по одному (рис. 3.2.1, табл. 3.2.1). Впродовж ембріонального розвитку за максимальної температури води (29–31°C) та при пониженому рівні розчиненого кисню (3,8 мг/дм³) відсоток мікроядер різко зростав. Клітини з трьома мікроядрами становили 68%, при цьому діаметр ядерець зменшувався.

Таблиця 3.2.1.

Кількість мікроядер у клітинах ембріонів коропа на різних стадіях розвитку в різних температурних умовах

Стадія розвитку	Температура води, °C					
	20	22	24	26	28	30
Дрібноклітинна морула	1,35±0,10	1,39±0,12	1,31±0,08	1,32±0,14	1,43±0,12	1,46±0,15
Закінчення гастрюляції	1,48±0,18	1,43±0,12	1,46±0,13	1,59±0,17	1,55±0,10	1,61±0,11
Очні бокали	1,59±0,13	1,62±0,11	1,61±0,18	1,68±0,08	2,22±0,21	2,18±0,24
Пігментація очей	1,74±0,11	1,87±0,21	1,82±0,14	2,12±0,10	2,21±0,12	2,25±0,15
Личинки	1,89±0,15	1,92±0,14	1,78±0,18	2,01±0,11	2,28±0,14	2,56±0,16

Як видно з табл. 3.2.1, при температурі 20°C в ікрі коропа на стадії дрібноклітинної морули середня кількість мікроядер становила – 1,35. Величина цього показника з розвитком ембріона поступово зростала. Вже на наступних етапах розвитку – закінчення гастрюляції вона зростала на 9,6%, очні бокали – на 17,7%, пігментація очей – на 29% та в личинок – на 40% порівняно з дрібноклітинною морулою.

Також помічено сталу закономірність зміни кількості мікроядер під впливом підвищеної температури води. Якщо на стадії дрібноклітинної морули у зародків величина цього показника практично не змінювалася, то в подальшому розвитку ембріонів відмічені негативні наслідки перевищення оптимальної для розвитку ембріонів коропа норми температури. Так, на стадії очних бокалів при 28 та 30°C спостерігалось підвищення кількості мікроядер на 35,4–37,9% порівняно з меншими температурами. Ідентична закономірність зміни величини цього показника за дії підвищення температури спостерігалось в подальшому розвитку ембріонів та личинок.

На підставі підрахунку кількості мікроядер в ембріонах та личинках коропа можна стверджувати, що величина цього показника адекватно характеризує негативні наслідки переважання температурного оптимуму, а відповідно зниження концентрації розчиненого кисню у воді. Відмічені наслідки дії температури оточуючого середовища можуть негативно позначитися на ембріональному розвитку коропа та призвести до появи аномально розвинених ембріонів. Оптимальною температурою для ембріогенезу коропа за цим показником можна вважати 20–24°C. При чому добові її коливання не повинні бути значними.

Білий товстолобик та білий амур. У рослиноїдних коропових риб протягом всього розвитку спостерігалась велика кількість ядерців в клітині, особливо вона зростала протягом ембріогенезу.

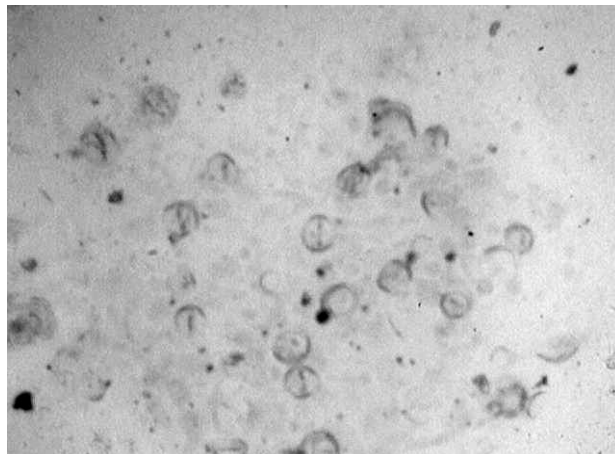
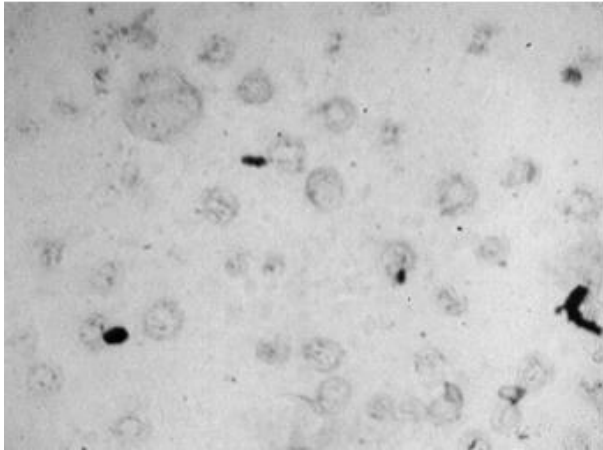
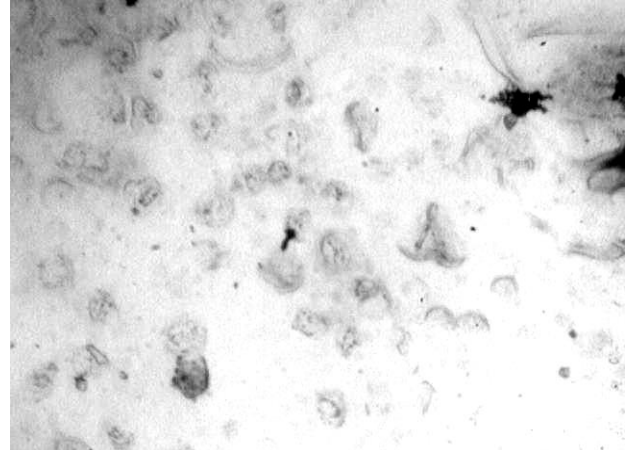


Рис.3.2.1. Мікроядра в клітинах ембріонів коропа.

На ранніх стадіях розвитку ембріонів (дрібноклітинна морула–кінець гастрюляції) переважали клітини з 2–4 ядерцями (до 93%), на пізніх етапах їх розвитку (очні бокали та перед вилупленням), а також в личинок 4–6 (до 84%), також зустрічалися клітини з 7–8 (до 6%) (рис. 3.2.2; табл. 3.2.2).



А



Б

Рис. 3.2.2. Мікроядра в клітинах ембріонів білого товстолобика (А) та білого амура (Б).

На стадії дрібноклітинної морули у білого товстолобика середня кількість ядерць становила 2,79–2,90 при температурі води від 20°C до 30°C. Величина цього показника залишалася на тому ж рівні і при 22°C. Кількість ядерць в ембріональних клітинах при різній температурі змінювалася в доволі вузьких межах, і різниця між максимальним (30°C) та мінімальним (26°C) величинами не мала вірогідних відмінностей та становила менше 5%. Це вказує на те, що у ембріонів білого товстолобика за перші 4–5 год. їх розвитку не відбувалися значні цитогенетичні зміни в широкому діапазоні температур 20–30°C. На наступних стадіях розвитку зародків – закінчення гастрюляції, очні бокали, пігментації та личинки кількість мікроядер вірогідно зростала по мірі збільшення температури води. При перевищенні температурного оптимуму в ембріональних клітинах утворювалася більша кількість ядерць, яка досягала величини 4,98 при температурі 30°C на стадії пігментації очей.

Слід відмітити, що в межах однієї температури, але на різних стадіях величина досліджуваного показника варіює в широкому діапазоні, зокрема при температурі оточуючого середовища 30°C на стадії дрібноклітинної морули

кількість ядерць була на рівні 2,90, вже під час пігментації очей величина цього показника зросла на 43%, а в личинках – 71,7%.

Таблиця 3.2.2.

Кількість мікроядер у клітинах ембріонів білого товстолобика та білого амура на різних стадіях розвитку в різних температурних умовах.

Стадія розвитку	Температура води, °C					
	20	22	24	26	28	30
	Білий товстолобик					
Дрібноклітинна морула	2,79±0,15	2,79±0,21	2,84±0,14	2,76±0,11	2,83±0,10	2,90±0,14
Закінчення гастрюляції	2,83±0,11	2,65±0,26	2,91±0,14	2,90±0,15	3,06±0,11	3,10±0,08
Очні бокали	3,76±0,14	3,69±0,13	3,85±0,17	3,78±0,11	3,95±0,15	3,85±0,17
Пігментація очей	3,95±0,12	4,02±0,16	3,89±0,10	3,98±0,14	4,10±0,09	4,15±0,15
Личинки	3,95±0,17	3,98±0,15	4,10±0,13	4,08±0,18	4,85±0,21	4,98±0,25
	Білий амур					
Дрібноклітинна морула	2,84±0,14	2,84±0,16	2,71±0,10	2,67±0,07	2,64±0,15	2,71±0,16
Закінчення гастрюляції	2,79±0,14	2,87±0,18	2,92±0,12	2,90±0,15	2,84±0,09	2,89±0,14
Очні бокали	4,19±0,23	4,25±0,20	4,23±0,18	4,35±0,27	4,29±0,21	4,41±0,19
Пігментація очей	4,23±0,15	4,18±0,13	4,19±0,18	4,40±0,12	4,51±0,11	4,72±0,14
Личинки	4,18±0,11	4,24±0,16	4,32±0,14	4,39±0,12	4,68±0,14	4,79±0,13

Таким чином, при підвищенні температури води більш 26–28°C спостерігаються цитогенетичні порушення мітотичного поділу клітин, які можуть призвести до аномального розвитку ембріонів білого товстолобика.

Значний вплив в цих процесах чинять і доволі низькі концентрації розчиненого кисню у воді, які спостерігаються при зростанні температури. Оптимальною температурою для ембріонального та раннього постембріонального розвитку цього виду риб можна вважати 24–26°C при відсутності значних її коливань протягом доби.

Аналогічна закономірність зміни кількості мікроядер за дії температури води спостерігалася в ембріональних та личинкових клітинах білого амура. Проте для цього виду риб оптимальний температурний діапазон був більш широкий, ніж у білого товстолобика, та становив 24–28°C. Саме при 26°C зафіксована мінімальна кількість мікроядер в ембріонах білого амура на стадії дрібноклітинної морули – 2,64, а максимальна кількість була при 30°C на стадії личинки та становила – 4,79, що на 77% більше порівняно з мінімумом. Також в цього виду риб спостерігалось різке збільшення кількості ядерць з переходом на наступну стадію ембріонального розвитку. При 20°C у зародків по мірі проходження ембріонального розвитку від стадії дрібноклітинної морули до пігментації очей величина цього показника зростала на 49%, при 22°C – 47%, 24°C – 54,6%, 26°C – 65,9%, 28°C – 71,6%, 30°C – 74,2%.

Окунь та йорж. Середня кількість мікроядер в клітинах цих видів риб протягом всього ембріогенезу становила 1–2 (до 89% всіх клітин). У личинок також зберігалася подібна тенденція, кількість клітин з 3 або 4 ядерцями не перевищувала 11% (рис. 3.2.3, табл. 3.2.3). Це можна пояснити тим, що під час проходження ембріогенезу та розвитку личинок в природних умовах не спостерігалось різких перепадів температур води (10–16°C – для окуня та 12–18°C – йорж), а розчинений кисень завжди був значно вищий за нижню допустиму межу оптимуму для цих видів (6,5–11 мг/дм³), тобто ембріони та личинки не знаходились тривалий час під впливом стрес-чинників, зокрема абіотичних чинників водного середовища. Вірогідно, саме це й було причиною низької кількості пошкоджених хромосом, які в наступному формували б мікроядра.

В ембріональних клітинах окуня та йоржа нами не спостерігалися закономірності, які характерні для коропа, білого товстолобика та білого амура, коли з переходом на наступну стадію розвитку кількість ядерців збільшувалася незалежно від температури води. Перш за все, це пов'язано з раннім нерестом даних видів риб. В цей період зазвичай не спостерігалось значних коливань температури води протягом доби.

Таблиця 3.2.3.

Кількість мікроядер у клітинах йоржа та окуня під час ембріонального їх розвитку в різних температурних умовах.

Стадія розвитку	Температура води, °C				
	10	12	14	16	18
Йорж					
Закінчення гастрюляції	—	1,55±0,12	1,61±0,08	1,59±0,14	1,71±0,17
Очні бокали	—	—	1,71±0,11	1,68±0,09	1,74±0,14
Пігментація очей	—	—	1,69±0,17	1,81±0,12	1,79±0,11
Личинки	—	—	1,74±0,14	1,72±0,13	1,75±0,16
Окунь					
Закінчення гастрюляції	1,59±0,12	1,64±0,17	1,78±0,11	1,69±0,15	—
Очні бокали	1,64±0,12	1,72±0,11	1,85±0,09	1,78±0,15	—
Пігментація очей	—	1,69±0,14	1,74±0,10	1,81±0,11	—
Личинки	—	1,74±0,13	1,84±0,11	1,85±0,12	—

Для ембріонального розвитку окуня є характерним те, що при більш низьких температурах досліджена кількість мікроядер у зародкових клітинах

знаходилася на мінімумі. Так, при 10°C на стадії закінчення гастрюляції було зафіксована мінімальна величина досліджуваного показника – 1,59, а максимум було відмічено при 14°C та 16°C на стадії очних бокалів та в личинках відповідно, що на 16,4% більше. На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що температура води в межах 10–12°C є найбільш оптимальною для ембріонального розвитку окуня.

Для ембріональних та ранніх постембріональних стадій розвитку йоржа оптимальним є весь діапазон досліджуваної температури (14–18°C), адже чіткої закономірності зміни кількості ядерець у клітинах під дією температурного чинника ми не спостерігали, величина цього показника змінювалася в дуже вузьких межах.

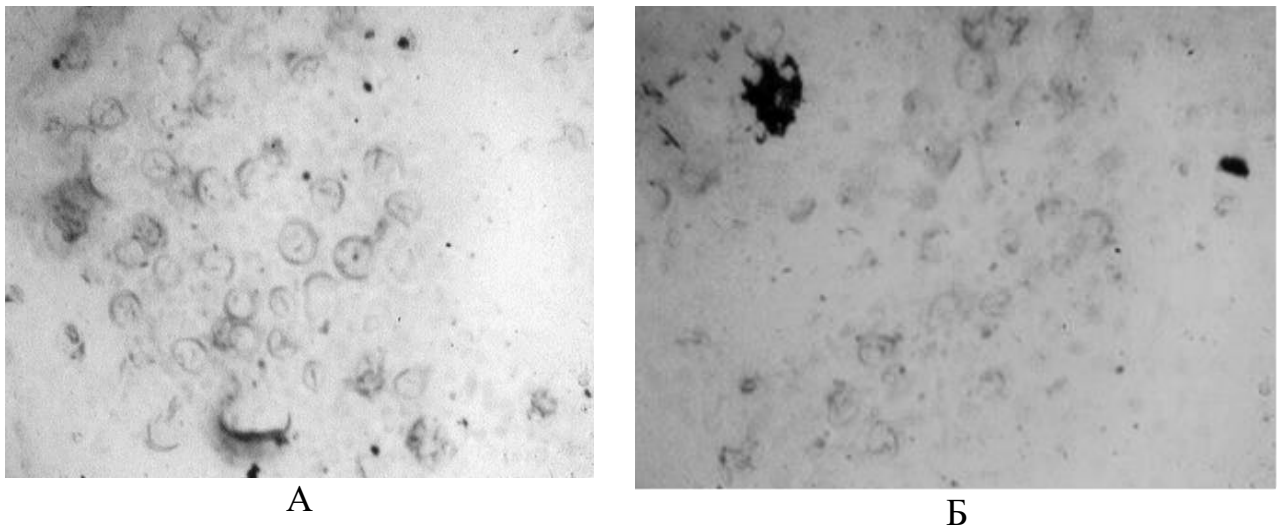


Рис.3.2.3. Мікроядра в клітинах ембріонів окуня (А) та йоржа (Б)

Плітка. Для плітки характерна наступна тенденція, яка дещо відмінна від окуня та йоржа. Ранні стадії розвитку характеризувалися кількістю мікроядер в клітинах на рівні 2–3 (до 94% клітин). В другій половині ембріогенезу та в личинок величина цього показника дещо зростала до 4–5 (до 91%) (рис. 3.2.4, табл. 3.2.4).

З отриманих даних видно, що зміни досліджуваного показника подібні на ті, що ми спостерігали в клітинах коропа, білого товстолобика та білого амура. З кожною наступною стадією кількість ядерець збільшувалася, зокрема при

14°C на стадії дрібноклітинної морули середня їх кількість у клітинах була рівна 2,2, вже на стадії закінчення гастрюляції їх стало на 2,3% більше, очних бокалів – 6,8%, пігментації очей – 57,7% та для личинок – 54,1%, порівнюючи з першою з досліджуваних стадією.

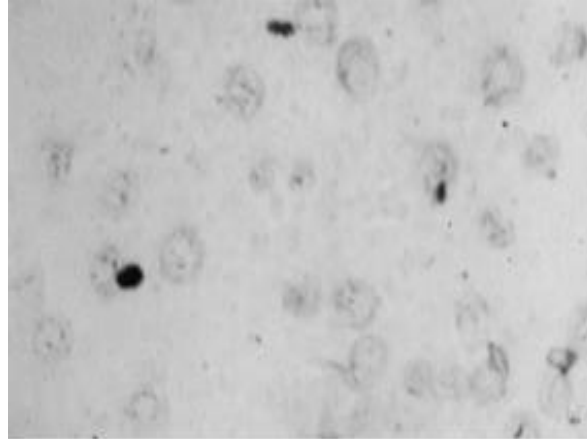


Рис. 3.2.4. Мікроядра в клітинах ембріонів плітки.

Таблиця 3.2.4.

Кількість мікроядер у клітинах ембріонів плітки на різних стадіях їх розвитку за різних температурних умов.

Стадія розвитку	Температура води, °C			
	14	16	18	20
Дрібноклітинна морула	2,20±0,17	2,28±0,12	2,27±0,14	2,41±0,16
Закінчення гастрюляції	2,25±0,11	2,35±0,14	2,41±0,16	2,54±0,12
Очні бокали	2,35±0,17	2,34±0,11	2,43±0,13	2,56±0,14
Пігментація очей	3,47±0,11	3,41±0,12	3,65±0,14	3,78±0,13
Личинки	3,39±0,12	3,54±0,13	3,74±0,9	3,78±0,11

Слід також відмітити, що при порівнянні впливу різних температур на ембріональний розвиток мінімальні величини досліджуваного показника

спостерігались при температурах 14–16°C. Так, якщо порівняти два температурні режими (14°C та 20°C), то кількість ядерць у клітинах значно зростала, зокрема на 9,5% (стадія дрібноклітинної морули), 12,9% (закінчення гаструляції), 8,95% (очні бокали), 9% (пігментації очей) та 11,5% (личинки). Отримані результати вказують, що діапазон температури 14–16°C є оптимальним для ембріональних стадій розвитку плітки.

Таким чином, за результатами проведених досліджень можна стверджувати, що визначення кількості ядерць в клітинах ембріонів та личинок різних видів риб є надзвичайно ефективним методом моніторингу негативного впливу оточуючого середовища та визначення ступеню впливу екологічних чинників на риб. Цей показник швидко реагує на зміну абіотичних чинників водного середовища таких, як температура та вміст розчиненого кисню у воді. Саме за допомогою цього методу в поєднанні з біохімічними маркерами (вмісту білка, ліпідів, вуглеводів та активності ключових ферментів енергетичного обміну СДГ, ЛДГ, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-ази та ін.) можна точно розрахувати безпечні рівні змін екологічних чинників.

Також, слід відмітити, що за кількістю ядерць у клітинах було встановлено деякі видові особливості зміни величини цього показника у різних риб. Так, в коропових риб було відмічено чітку закономірність збільшення кількості ядерць у клітинах з кожною наступною стадією розвитку ембріона, коли мінімальна величина фіксувалася на стадії дрібноклітинна морула, а максимум був відмічений на стадії пігментації очей та в личинках. Ця закономірність не була характерна для досліджуваних окуневих видів риб, зокрема окуня та йоржа.

РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ КОЛИВАНЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ НА ЗАГАЛЬНІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОНІВ, ПЕРЕДЛИЧИНOK ТА ПЛОДЮЧІСТЬ РИБ

Відомо, що швидкість використання ембріонами риб енергоємних сполук жовточного мішка в основному залежить від температури оточуючого середовища та фізіологічного стану організму [126]. У житті риб температура води має величезне значення. Зміни температури чинять сильний вплив на хід обмінних процесів, інтенсивність дихання, швидкість травлення їжі; також відображаються і на ході розвитку статевих залоз [3, 5, 7, 10, 33, 40, 41 та ін.]. З видовою специфікою пов'язані у риб і оптимальні температури, до яких вони пристосовані. У риб високих широт виробився такий тип обміну речовин, який дозволяє їм успішно харчуватися при досить низьких температурах. Але в той же час у холодноводних риб (минь, таймень, сиги) при високих температурах різко знижується активність і падає інтенсивність харчування. У риб низьких широт інтенсивний обмін йде тільки при високих температурах [42, 43, 45, 46, 48, 61, 62 та ін.].

4.1. Вміст загальних білків у риб на ембріональних та ранніх постембріональних етапах їх розвитку за дії коливань температурного та кисневого режиму водойми

Білий товстолобик. Як показали результати власних досліджень, у ембріонах білого товстолобика на стадії гаструляції (рис. 4.1.1) вміст білка не коливався в значних межах залежно від температури водного середовища від 23 до 31°C. Але найбільший рівень його вмісту спостерігався при температурі води 29°C, який складав 3,34 мг/г. Мінімальний вміст білка був зафіксований при температурі 31°C і становив – 2,91 мг/г, що лише на 12% менше порівняно з максимальними величинами цього показника.

Проте, вже на наступній стадії розвитку – очні бокали, ми можемо бачити зовсім іншу залежність між температурою води та вмісту білка в ембріонах. З підвищенням температури їх рівень в зародках білого товстолобика різко падав з 4,11 мг/г (при 23°C) до 1,69 мг/г (при 33°C).

Аналізуючи дані з вмісту білків в зародках протягом всього ембріонального розвитку можна дійти наступного висновку. На ранніх стадіях розвитку ембріонів білого товстолобика оптимальна температура води значно вища і знаходиться в більш широкому діапазоні (24–30°C), ніж на пізніх стадіях розвитку (23–25°C). Очевидно, що ембріони на пізніх стадіях розвитку більш вразливі до підвищення температури води. Також, на передодні вилуплення вони потребують більшої кількості кисню для забезпечення аеробного шляху метаболізму, адже саме на пізніх стадіях розвитку і починають формуватися нові тканини, органи, системи органів тощо.

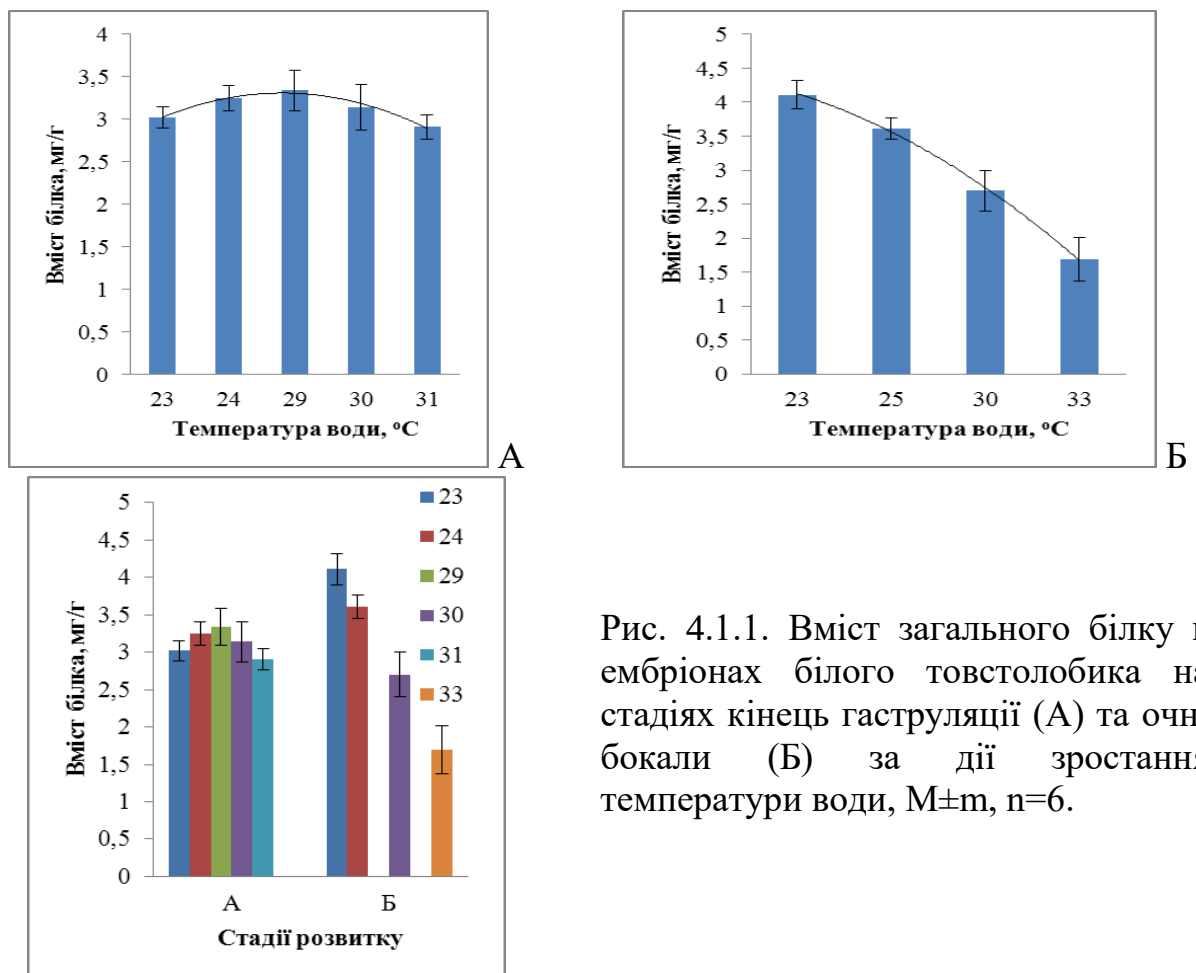


Рис. 4.1.1. Вміст загального білку в ембріонах білого товстолобика на стадіях кінець гастрюляції (А) та очні бокали (Б) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Білий амур. Білий амур, як і білий товстолобик, є видом риб, розвиток ембріонів в середині оболонки у яких відбувається в товщі водного

середовища. Ікра цих риб є пелагічною. На стадії кінець гастрюляції вміст білків в зародках був більше в 1,5 рази при 29°C, ніж при 20°C, що свідчить про оптимальність для розвитку цього температурного режиму (рис. 4.1.2).

На стадії очні бокали при температурі 29°C було помічено максимум вмісту білка – 3,11 мг/г. Очевидним є те, що в усьому діапазоні температур не помічено різких змін величини цього показника, що свідчить про високі пристосувальні можливості ембріонів білого амура до дії температурного чинника. Також, слід відмітити, що висока стійкість зародків до перепадів температури можлива лише при достатній насиченості води розчинним киснем (5,0–6,3 мг/дм³), по мірі зниження його концентрації різко зменшується життєздатність ембріонів та підвищується кількість їх аномального розвитку.

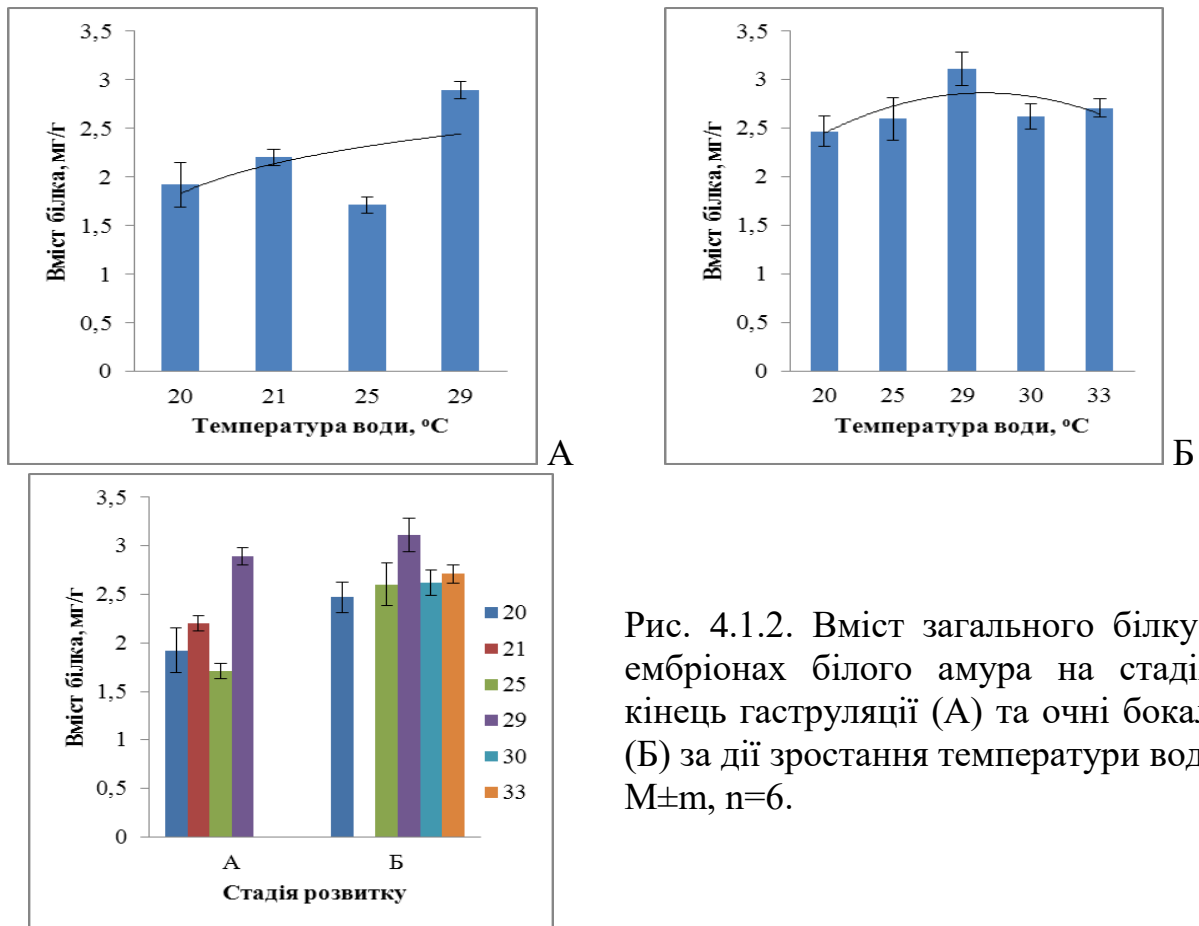


Рис. 4.1.2. Вміст загального білку в ембріонах білого амура на стадіях кінець гастрюляції (А) та очні бокали (Б) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Аналізуючи вміст загального білку протягом всього ембріогенезу в зародках білого амура можна дійти висновку, що при тих самих температурах води на початкових стадіях білку значно менше, ніж на пізніх етапах розвитку. Це пов'язана, в першу чергу, з синтезом нових білків в процесах поділу клітин ембріонів та частковою втратою води з перевітелінового простору ікринки.

Найбільш оптимальною температурою на всіх стадіях розвитку була температура в межах 28–29°C, що узгоджується з результатами інших дослідників [65, 69, 85, 88].

Аналогічно визначали вміст білка і після вилуплення передличинок з оболонки ікринки в ході їх постембріонального розвитку. За власними результатами встановлено, що личинки також чутливо реагують на зміну умов середовища, збільшуючи або зменшуючи синтез нових сполук білкової природи. На першу добу розвитку передличинок помічено хвилеподібний характер змін вмісту білка залежно від температури оточуючого середовища. При цьому максимум накопичення білка зафіксовано за температури 22,5°C, проте вже при 23,5°C ми спостерігали мінімальну його величину. З подальшим підвищенням температури рівень білку в личинках білого амура знову зростає (рис. 4.1.3).

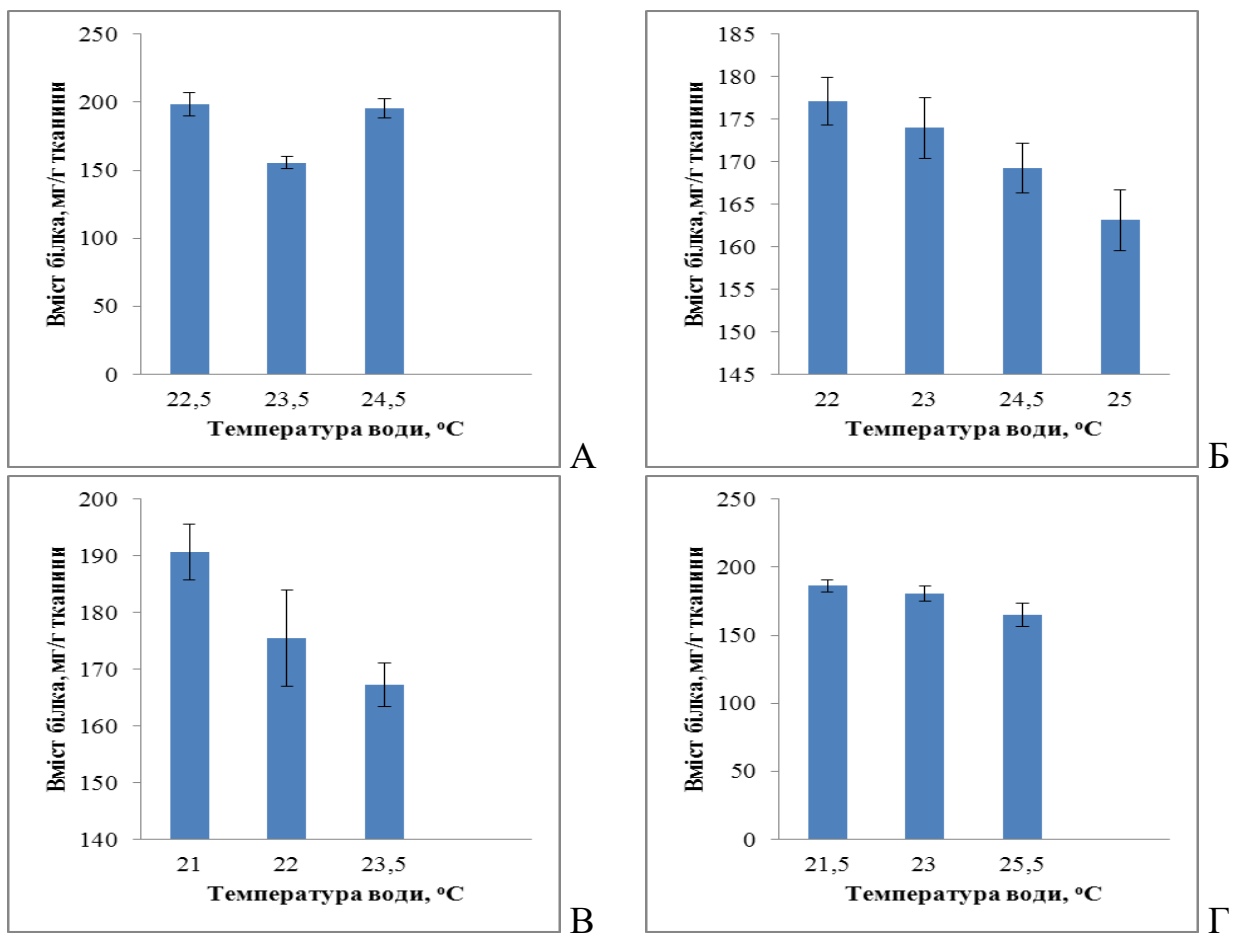


Рис. 4.1.3. Вміст загального білку в личинках білого амура за різних температур води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку.

На другу добу закономірність зміни рівня білку під впливом температури води кардинально змінилася. Просліджувалась чітка тенденція – зі збільшенням температури вміст білку поступово падав (рис. 4.1.3). Максимум величини цього показника відмічено при 22°C, а мінімум – при 25°C. Слід зазначити, що ця закономірність зберігалася і протягом третьої та четвертої доби розвитку личинок. В цей час максимальний рівень білка завжди фіксувалися при мінімальних температурах з усього діапазону (21–22°C), а найменші рівні при максимальних температурах (24–25°C). В першу чергу, це свідчить про прискорення постембріонального розвитку личинок з підвищенням температури води та більшими витратами запасних білків на формування органів та тканин самих личинок.

Також заслуговує на увагу той факт, що протягом всього діапазону температур (21–25°C) вміст білку знаходився на високому рівні 164–200 мг/г. Це вказує на те, що досліджувані температури не виходять за межі порогових величин для цього виду риби.

З отриманих даних видно, що личинки білого амура добре розвивалися та підтримували на високому рівні синтез нових білків в діапазоні температур 21–25°C. Проте навіть в цих межах нам вдалося зафіксувати наступну закономірність: максимальний вміст білків завжди був при мінімальних температурах. Це свідчить про те, що температура 21–22°C є найбільш характерною для природних умов відтворення цього виду. За цих умов у личинок білого амура відмічено мінімальну кількість аномалій їх розвитку.

Короп. Для коропа характерним є те, що на початкових стадіях ембріогенезу (кінець гастрюляції–початок відділення хвостового стебла) помітне різке зменшення вмісту загального білка в ембріонах за дії підвищеної температури. Найвищий його рівень був при температурі 25°C (105,29 мг/г), а при 30°C він був на 24,5% меншим (рис. 4.1.4).

На стадії рухливого ембріону вміст білків в діапазоні температур 23–26°C знаходився майже на одному рівні. Проте, з наступним підвищенням температури оточуючого середовища до 27°C величина цього показника

ембріонів різко зростала на 22% (109,44 мг/г), порівняно з 26°C (85,03 мг/г). Дане збільшення продовжувалося й при 31°C та становило 117,63 мг/г. Це, ймовірно, викликано недостатнім використанням запасних білків через порушення ембріонального розвитку при підвищеній температурі. Саме на цих стадіях спостерігалось зростання утворення аномальних зародків.

На пізніх стадіях розвитку помітна наступна залежність: найвищий рівень білка спостерігався при температурі 25–26°C – 96,67 мг/г, при підвищенні чи при зниженні температури оточуючого середовища вміст білка в ембріонах дещо зменшувався. Це може свідчити про те, що температура в діапазоні 25–26°C є оптимальною для синтезу нових білків, які будуть в подальшому використані для побудови організму.

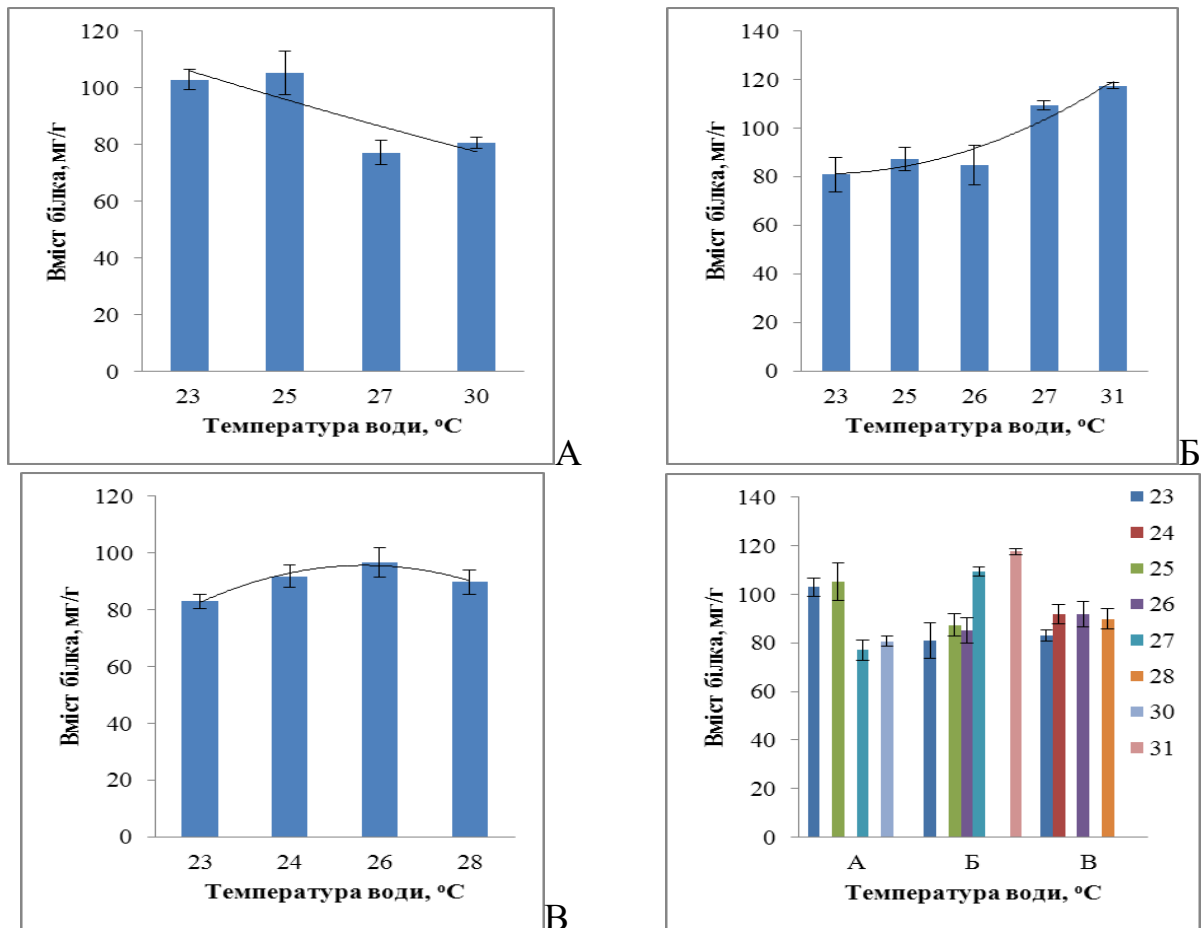


Рис. 4.1.4. Вміст загального білку в ембріонах коропа на стадіях відділення хвоста (А) рухливого ембріона (Б) та пігментації очей (В) за дії температури оточуючого середовища, $M \pm m$, $n=6$.

Аналіз вмісту загального білку в ембріонах коропа протягом всього ембріогенезу свідчить, що ембріони коропа можуть вдало адаптуватися до

високої температури води – 31°C, але лише при оптимальній концентрації розчиненого кисню в воді (4,5–5,8 мг/дм³). При пониженій концентрації кисню відбувалося збільшення аномалій розвитку ембріонів, зниження їх виживання та зміна масо-розмірних характеристик тощо. Для зародків коропа також є характерним те, що на різних стадіях розвитку оптимальні температури відрізняються. Зокрема, на ранніх стадіях розвитку цими температурами є 23–25°C, на пізніх – вони зростають до 25–27°C.

Також проведені дослідження вмісту білку у передличинках коропа, які розвивалися протягом 4 діб. В першу добу після вилуплення вільні ембріони коропа знаходились в широкому діапазоні температур від 22 до 28°C (рис. 4.1.5). Мінімальні рівні білка в них знаходилися в середній частині діапазону температури води (26,5°C), як з підвищенням, так і зниженням температури оточуючого середовища його вміст поступово збільшувався, досягаючи максимуму при крайніх величинах температури (22°C та 28°C). Це вказує на те, що температура 26,5°C є оптимальною, при відхиленні від неї задіюються додаткові адаптивні механізми. Аналогічна тенденція змін величини цього показника помічено також на другу та третю добу досліджень. Максимальний вміст білків зафіксовані при крайніх температурах з усього діапазону – 22 та 27,5°C (друга доба), 22 та 28,5°C (третя доба). Мінімальні величини, як і в першу добу розвитку личинок, зафіксовані при 26,0–26,5°C.

Для четвертої доби розвитку личинок був збільшений температурний діапазон до 29°C. Саме при цій температурі було зафіксовано мінімальний вміст білків. Також, слід відмітити, що загальна тенденція зміни величини цього показника протягом перших трьох діб розвитку на четверту добу частково збереглися. На рисунку 4.1.5 чітко видно, що максимальний вміст білка спостерігався при мінімальній температурі 22°C, а мінімальний – при 25°C. Личинки успішно пройшли межу в 26°C і у них знову збільшувався рівень білків при 28°C, проте вже при 29°C величина даного показника знову почала зменшуватися. Очевидно, температура оточуючого середовища 29°C виявилась межею адаптаційних можливостей для личинок коропа.

На підставі викладених матеріалів можна дійти наступних висновків, що для личинок коропа є характерним два діапазони оптимальних температур. Це 22–24°C та 27–28°C при наявності достатньої концентрації розчиненого кисню (вище за 5,0 мг/дм³), проте розвиток личинок при нижчих температурах був більш сприятливим, адже саме при них відмічена мінімальна кількість їх аномального розвитку [234, 240, 247, 248].

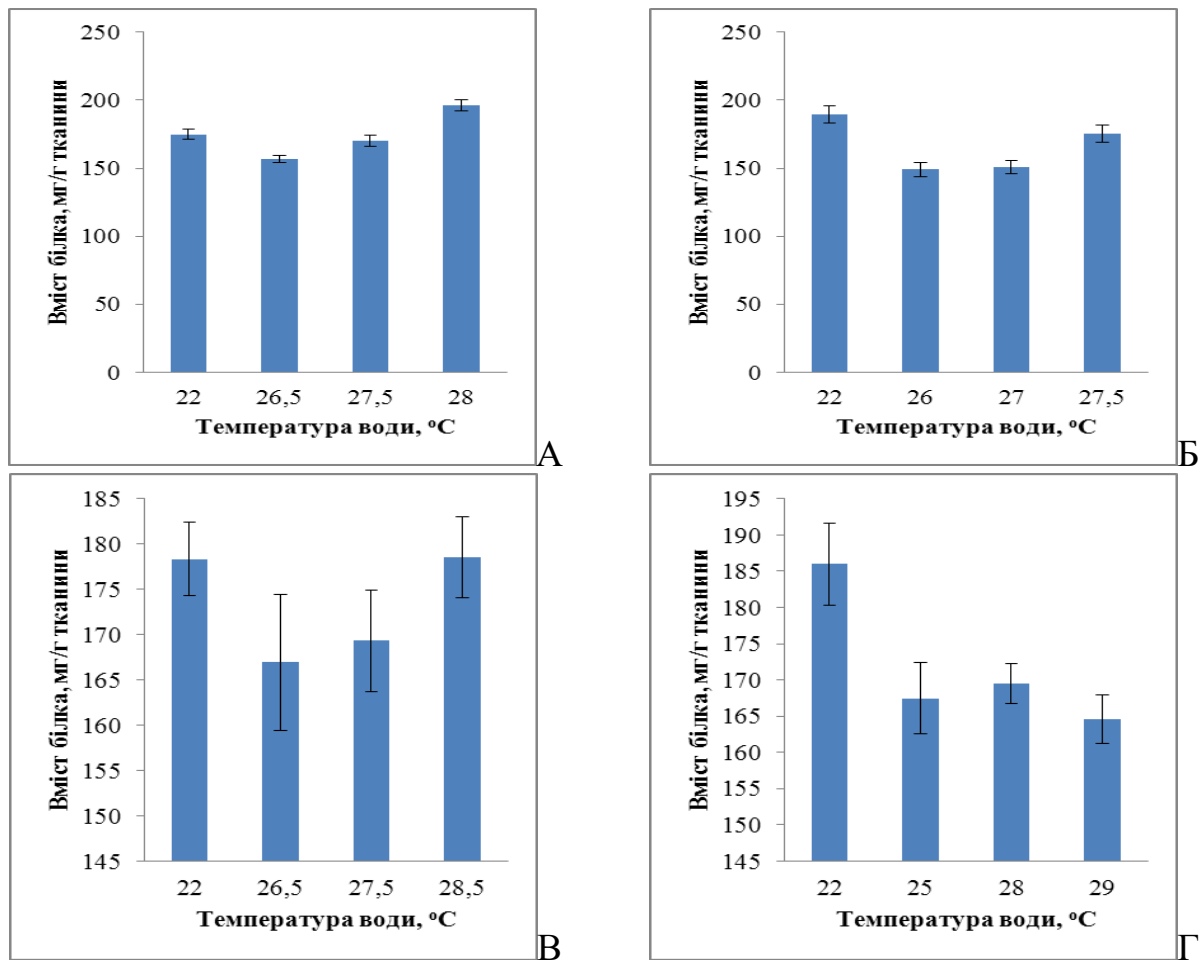


Рис. 4.1.5. Вміст загального білку в личинках коропа під впливом змін температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба, Б – друга доба, В – третя доба, Г – четверта доба

Окунь. Аналогічні дослідження були проведені й на аборигенних видах риб, зокрема окуні звичайному. Оскільки нерест окуня відбувався на початку квітня, то в природних умовах на нерестовищах не було відмічено різких коливань температури та концентрації кисню в воді. Проте, навіть при незначних коливаннях цих чинників було помічено зміну вмісту білку у ембріонах. На початкових стадіях розвитку – кінець гаструляції, максимальний

вміст білку в ембріонах окуня був зафіксований при 10,4°C, а мінімальний при температурі 10,2 – 111,4 мг/г, що лише на 2,5% менше за максимум (рис. 4.1.6).

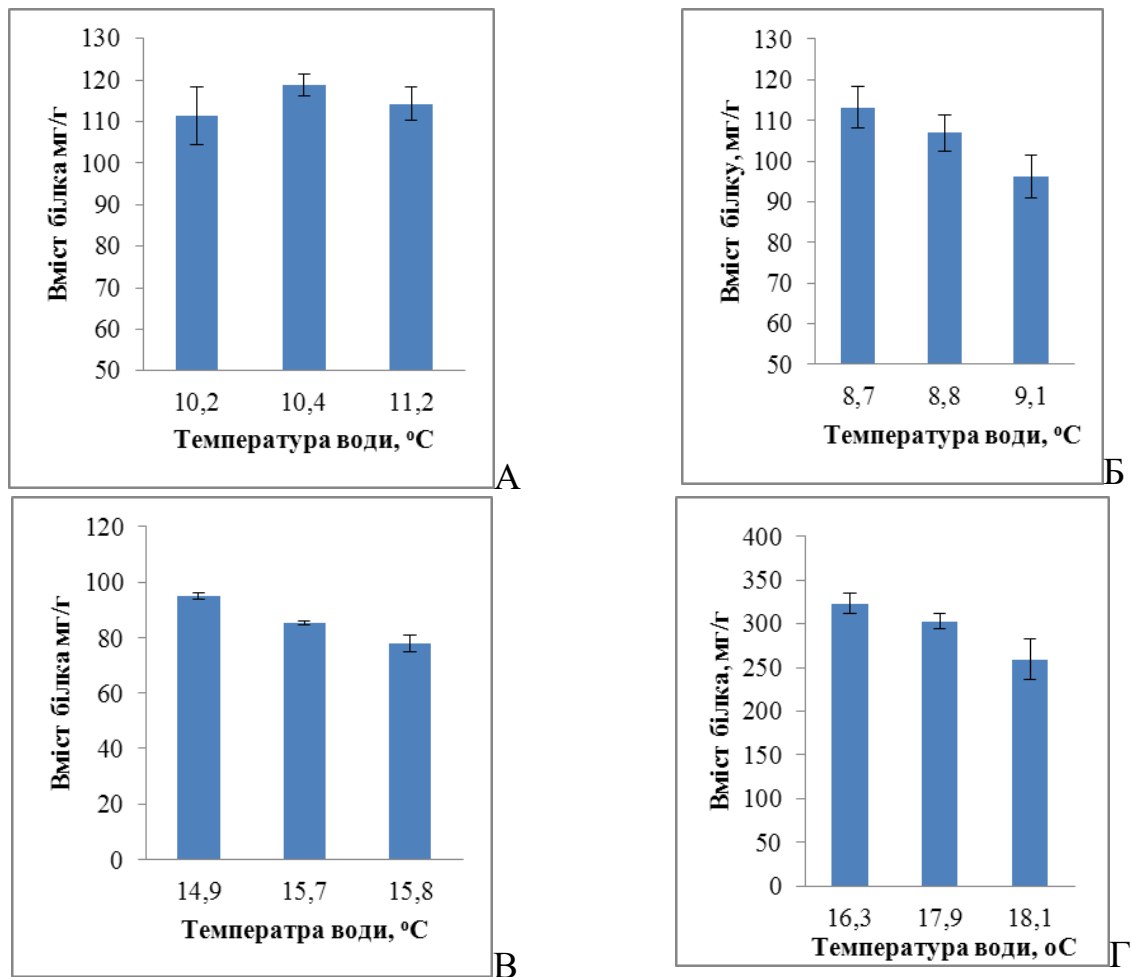


Рис. 4.1.6. Вміст загального білку в ембріонах окуня на різних стадіях розвитку за різних температурних умов водного середовища, $M \pm m$, $n=6$. Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки.

На наступній стадії розвитку (очні бокали) помітне зниження температури оптимуму до 8,7°C (113,2 мг/г) порівняно з попередньою стадією (кінець гастрюляції), де максимальний вміст білку був при 10,4°C (118,8 мг/г). На рисунку 4.1.6 чітко прослідковується наступна закономірність: з підвищенням температури рівень білку в ембріонах окуня зменшувався. Мінімальна його кількість була зафіксована при 9,1°C (96,2 мг/г), яка була менше за максимальну (113,2 мг/г при 8,7°C) на 15%.

Для стадії пігментації очей також є характерною тенденція, яка подібна і для попереднього етапу розвитку, а саме: з підвищенням температури вміст білку в ембріонах зменшувався. Його максимум було помічено при $14,9^{\circ}\text{C}$ та становив $94,9 \text{ мг/г}$, а мінімальну величину зафіксовано при $15,8^{\circ}\text{C}$ (78 мг/г) і було меншим на $17,8\%$.

Аналізуючи дані з коливань вмісту білку в ембріонах окуня протягом всього ембріогенезу можна стверджувати, оскільки ембріогенез окуня відбувався ранньою весною, коли температура на природніх нерестовищах не змінюється в широкому діапазоні, тому не було помічено різких коливань вмісту білків. Також, велику роль відіграв той факт, що протягом всього експерименту не було помічено жодного зниження концентрації кисню у воді до критичної межі, вона знаходилась в межах $7,5\text{--}10,8 \text{ мг/дм}^3$. Оптимальною температурою для ембріонального розвитку окуня була температура $9\text{--}11^{\circ}\text{C}$.

Дослідження коливань вмісту білків продовжилось і після вилуплення ембріонів на стадії передличинки. Нами спостерігалася подібна закономірність зі зміни вмісту білка в організмі, як і на попередніх стадіях розвитку. Максимальна його величина зафіксована при $16,3^{\circ}\text{C}$ – $323,3 \text{ мг/г}$, а мінімальна було на $19,7\%$ меншою і становила – $259,4 \text{ мг/г}$ при $18,1^{\circ}\text{C}$ [238].

З вище викладених результатів власних досліджень видно, що ембріони та передличинки окуня чутливо реагують на зміну умов оточуючого середовища, посилюючи катаболіз білків при підвищенні температури, навіть при незначному на $0,4\text{--}1,0^{\circ}\text{C}$, незважаючи на оптимальну насиченість води киснем.

Плітка. Дослідження вмісту білків в ембріонах та передличинках було також проведено й на плітці, яка є типовим аборигенним видом. Аналіз результатів власних досліджень дозволив встановити, що на ранніх стадіях розвитку (кінець гастрюляції) рівень білків поступово підвищувався зі збільшенням температури (рис. 4.1.7). Максимальна його величина була зафіксована при $18,5^{\circ}\text{C}$ та становила 140 мг/г .

На наступній стадії розвитку – очні бокали, в усьому діапазоні досліджуваної температури від 15°C до 16,9°C вміст білку був на одному рівні (117–119 мг/г). Це можна пояснити тим, що дані температури були в межах оптимуму для ембріонального розвитку для цього виду риб.

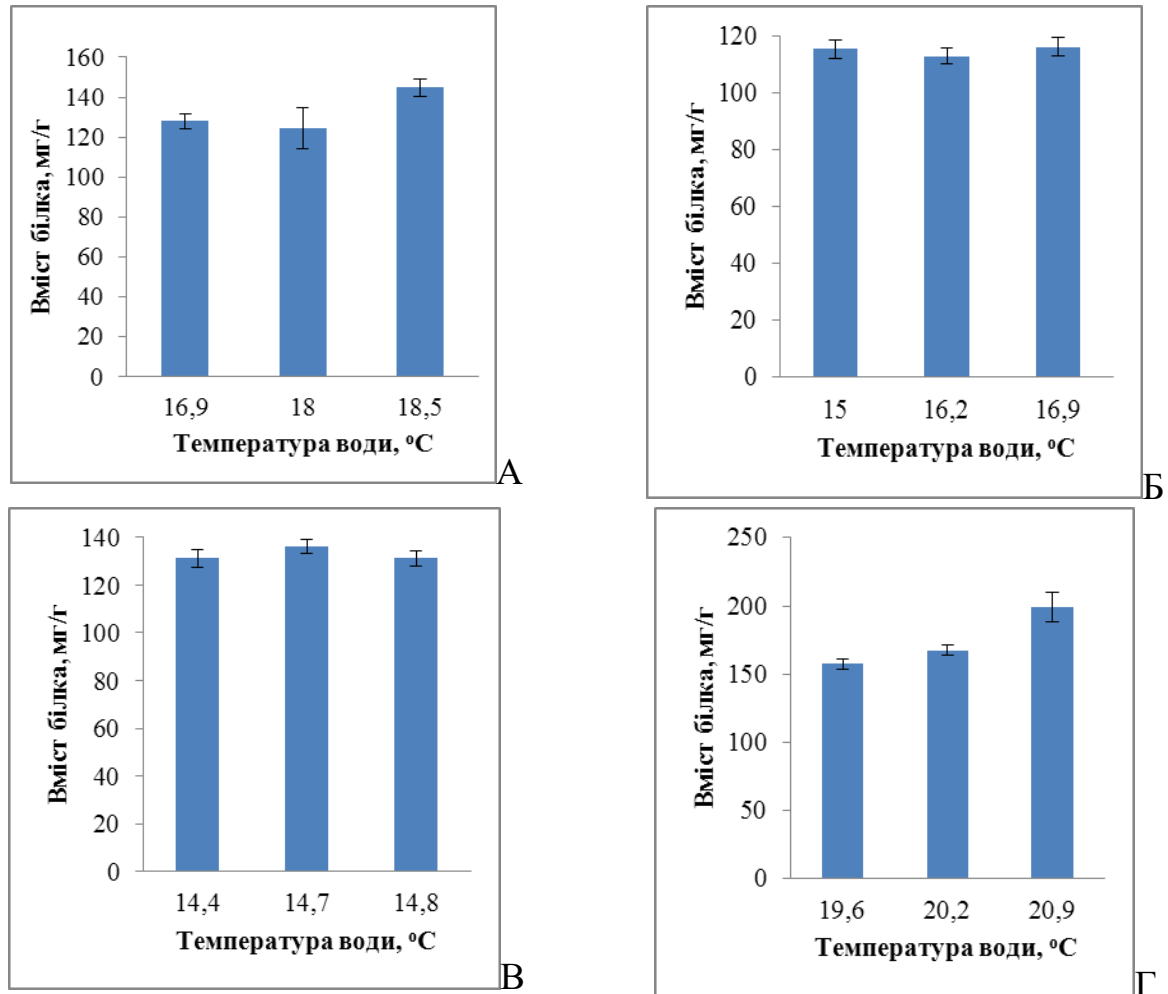


Рис. 4.1.7. Вміст загального білку в ембріонах плітки на різних стадіях їх розвитку за різних температурних умов водного середовища, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки.

Також на стадії пігментація очей жодних істотних коливань рівня білків не відмічено. Максимальна та мінімальна його кількість відрізнялась всього лише на 2% та була невірогідною, але і діапазон температури був малим – від 14,4°C до 14,8°C.

Вже після вилуплення та переходу ембріонів на стадію передличинки, коли у водоймах помітно збільшилася температура води до 19,6–20,9°C, виявлялися коливання вмісту білків в передличинках. Мінімальна величина

була зафіксована при 19,6°C, далі з підвищенням температури рівень білків стрімко збільшувався і досягав максимуму при 20,9°C (198 мг/г).

Аналізуючи дані коливань вмісту білків в ембріонах та передличинках плітки, можна зробити наступні узагальнення: у ембріонів плітки в низькому температурному діапазоні 14,4–16,9°C синтез нових білків та утилізація їх запасів стабільні без різких коливань, що свідчить про оптимальність цієї температури для ембріонального розвитку плітки. З подальшим підвищенням температури оточуючого середовища до 18,5°C спостерігали різке збільшення вмісту білків. Це може свідчити про прискорення розвитку ембріонів та синтезу нових необхідних білків, ембріони швидко пристосовувалися до умов існування. Про це свідчить і той факт, що вже на стадії передличинки плітка цілком нормально витримувала діапазон температур від 19,6°C до 20,9°C, без збільшення відсотку аномалій їх розвитку, але за умови достатнього насичення води киснем.

Йорж. Аналогічні дослідження також проводилися на ембріонах та передличинках йоржа. Нерест йоржа відбувався ранньою весною в низькому температурному діапазоні 13–14°C, далі під час ембріонального розвитку температура поступово піднімалася й досягала максимуму у 21,3°C вже на стадії передличинки. На ранній стадії розвитку ембріонів – кінець гастрюляції значних коливань вмісту білків в ікрі йоржа нами не зафіксовано (рис. 4.1.8), але й температурний діапазон був в вузьких межах (13,6–14,5°C). Максимальний вміст білку в ембріонах при 13,6°C було більшим за мінімальний (14,4°C) всього на 3,6%, але ця різниця була невірогідною.

Для наступної стадії розвитку (очні бокали) температура води в деяких водоймах підвищилася до 18,8°C. Внаслідок більш широкого діапазону зміни температури стало помітно, що з її підвищенням рівень білків в ембріонах зменшувався. Максимальний його рівень був зафіксований при 16,3°C, а мінімальний – при 18,8°C, що на 19,2% менше. Це свідчить, що для ембріонів йоржа більш оптимальною для їх розвитку є температура 16,3°C, ніж 18,8°C.

Для передличинок йоржа також зберігається подібна тенденція до попередньої стадії за змінами вмісту білка в зародках. Максимальний вміст білка спостерігався при більш низькій температурі – 19,4°C (227,2 мг/г), а мінімум становив 209,1 мг/г при 21,3°C що на 7,9% менше.

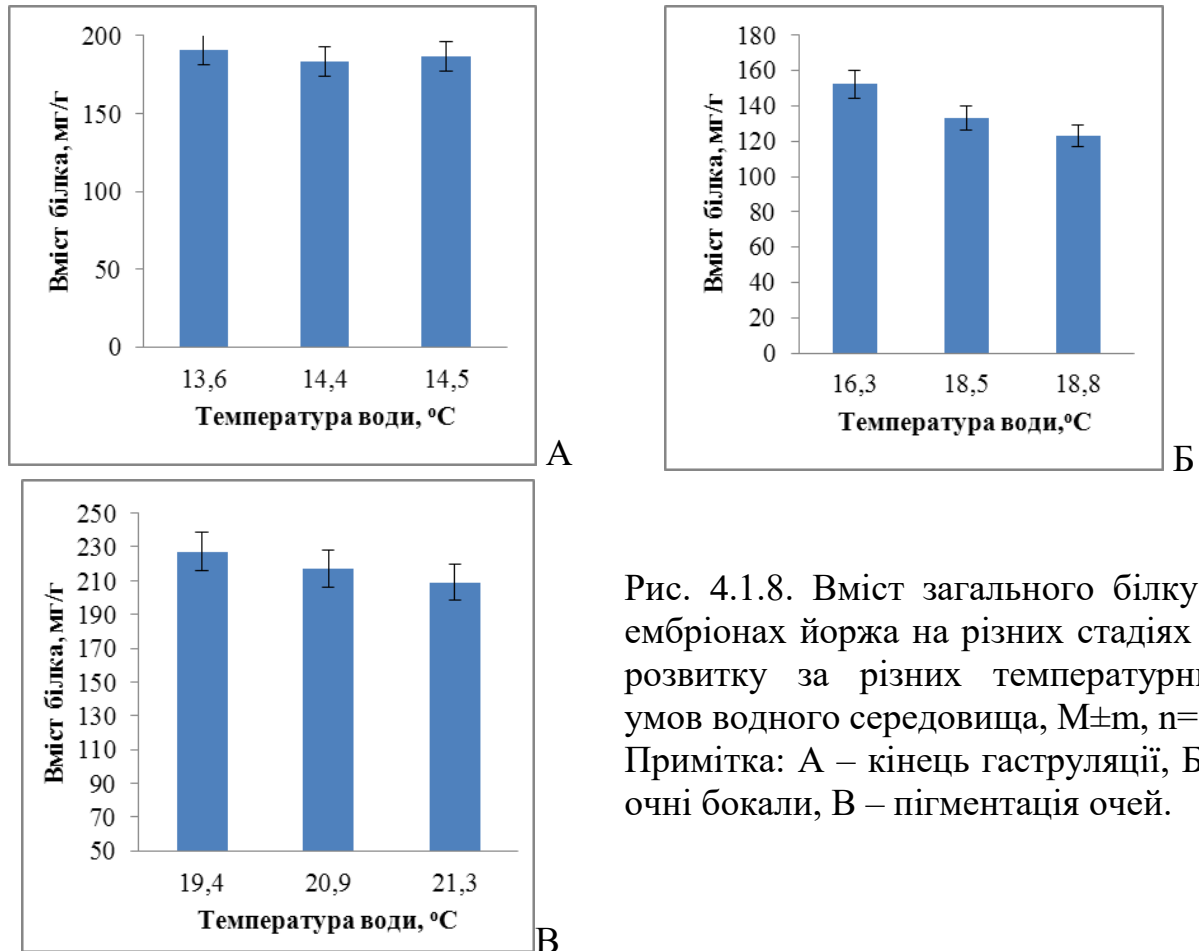


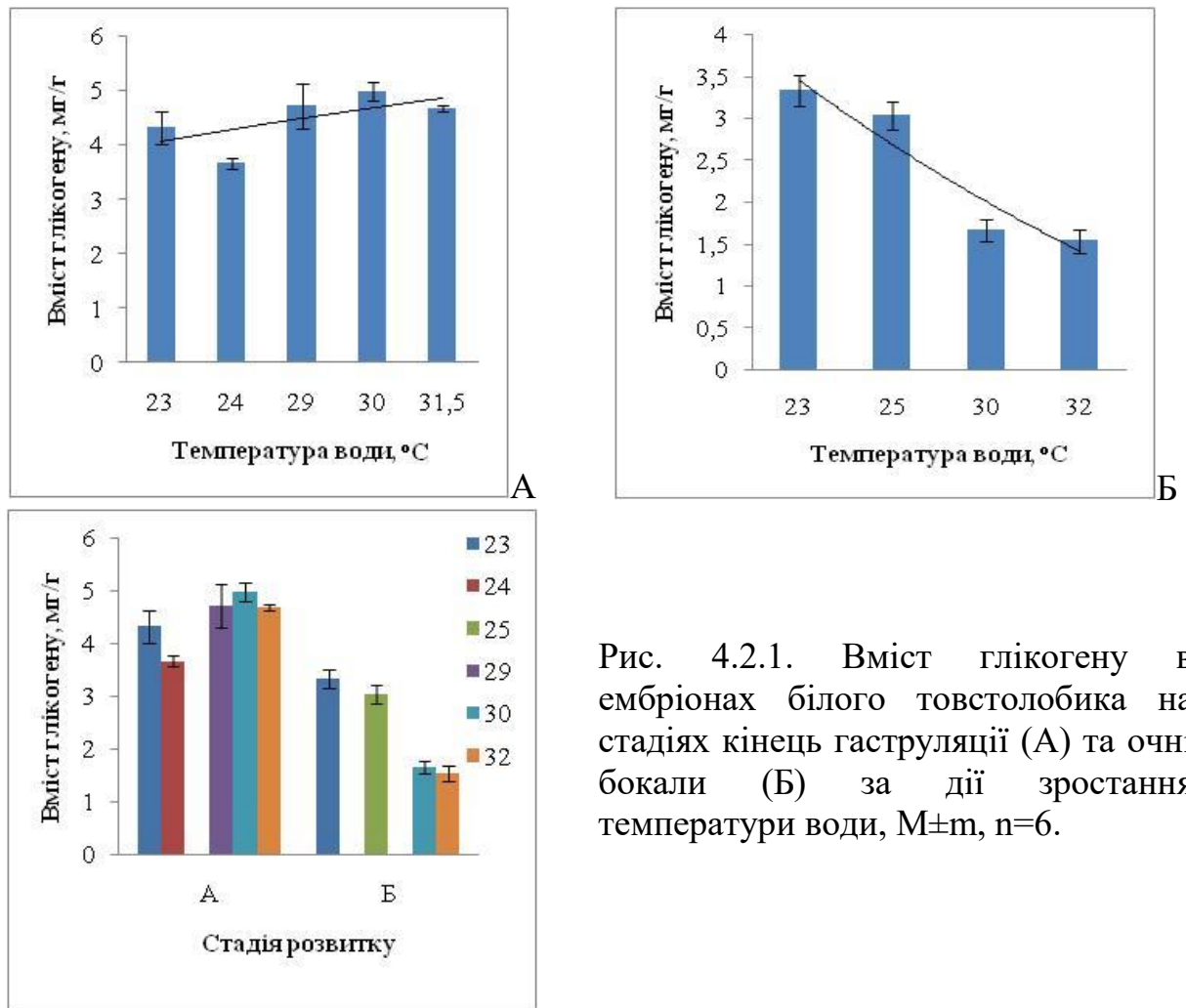
Рис. 4.1.8. Вміст загального білку в ембріонах йоржа на різних стадіях їх розвитку за різних температурних умов водного середовища, $M \pm m$, $n=6$. Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей.

Аналізуючи дані по коливанням вмісту білків в ембріонах та передличинках йоржа можна стверджувати, що для нормального ембріонального розвитку найбільш оптимальним діапазоном температур є 14–16°C. Проте він на стадії передличинки вже досягав до 19,4°C.

4.2. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на вміст глікогену у риб під час ембріонального та раннього постембріонального етапів їх розвитку.

Білий товстолобик. Вміст глікогену в зародках під час їх ембріонального розвитку змінювався подібним чином, як і білку (див. рис. 4.1.1.). На стадії кінець гастрюляції рівень глікогену стабільно зростає з підвищенням

температури води, а саме з 4,32 мг/г при 23°C до 4,98 мг/г при 30°C (рис. 4.2.1.). Під час подальшого підвищення температури величина цього показника починала знижуватися та була нижчою на 7% при 31,5°C порівняно з 30°C.



На стадії очні бокали спостерігалась зворотна залежність з підвищенням температури вміст глікогену істотно падав з 3,33 мг/г при 23°C до 1,54 мг/г при 32°C. Це вказує на те, що на пізніх стадіях розвитку ембріони білого товстолобика більш вразливіші до змін чинників оточуючого середовища, ніж на ранніх етапах, на температурну адаптацію потрібна витрата додаткових енергетичних ресурсів. Це підтверджується також активністю ключових ферментів енергетичного та пластичного обміну і вмістом білка.

Аналізуючи зміни вмісту глікогену в ембріонах білого товстолобика протягом всього ембріогенезу можна стверджувати, що його зародки витрачають велику кількість енергії для адаптації до різкого зростання температури та відповідно зниження концентрації розчиненого кисню. На стадії

очні бокали це більш яскраво виражено, ембріони на пізніх етапах розвитку вразливіші до дії змін абіотичних чинників водного середовища, ніж на ранніх стадіях ембріогенезу. Також при підвищенні температури води вище 31°C спостерігалось зменшення концентрації кисню до 4,0–4,7 мг/дм³, що, в свою чергу, спричинило перебудову метаболізму ембріонів, вони почали активно використовувати гліколіз для енергозабезпечення процесів життєдіяльності. Оптимальним температурним інтервалом для ембріонального розвитку білого товстолобика можна вважати 25–29°C при достатній концентрації кисню у воді (більш 5,0 мг/дм³). Якщо розчиненого кисню менше за цю величину, то настає або повна загибель ембріонів, або переважають аномально розвинуті зародки.

Білий амур. Аналіз власних даних за вмістом глікогену в ембріонах білого амура на стадії кінець гастрюляції показав хвилеподібний характер змін величини цього показника за дії температурного режиму (рис. 4.2.2). Максимальні рівні глікогену спостерігали при мінімальних та максимальних температурах – 5 мг/г (20°C) та 4,31 мг/г (29°C). В середньому діапазоні температур від 21 до 25°C вміст глікогену був в межах 3,27–3,64 мг/г.

На стадії очні бокали спостерігали пряму залежність – зі збільшенням температури води вміст глікогену в зародках зростає. При температурі 33°C він був більшим в 1,8 рази, ніж при 20,5°C.

Таким чином, під час розвитку білого амура було встановлено, що температура води 29°C є для цього виду риб найбільш сприятливою. Саме при ній ми спостерігали найвищий вміст білків та глікогену. Також заслуговує на увагу той факт, що під час ембріонального розвитку білого амура при 33°C за умов високого насичення води киснем від 6,5 до 7,4 мг/дм³ цей вид риб почував себе добре. Але при зниженні концентрації розчиненого кисню переважав аномальний розвиток ембріонів. В цьому полягає видова специфічність метаболічних реакцій білого амура порівняно до білого товстолобика. Також у білого амура ширші адаптивні можливості до температурного та кисневого режиму водойми, що підтверджується його вищою життєздатністю порівняно до білого товстолобика.

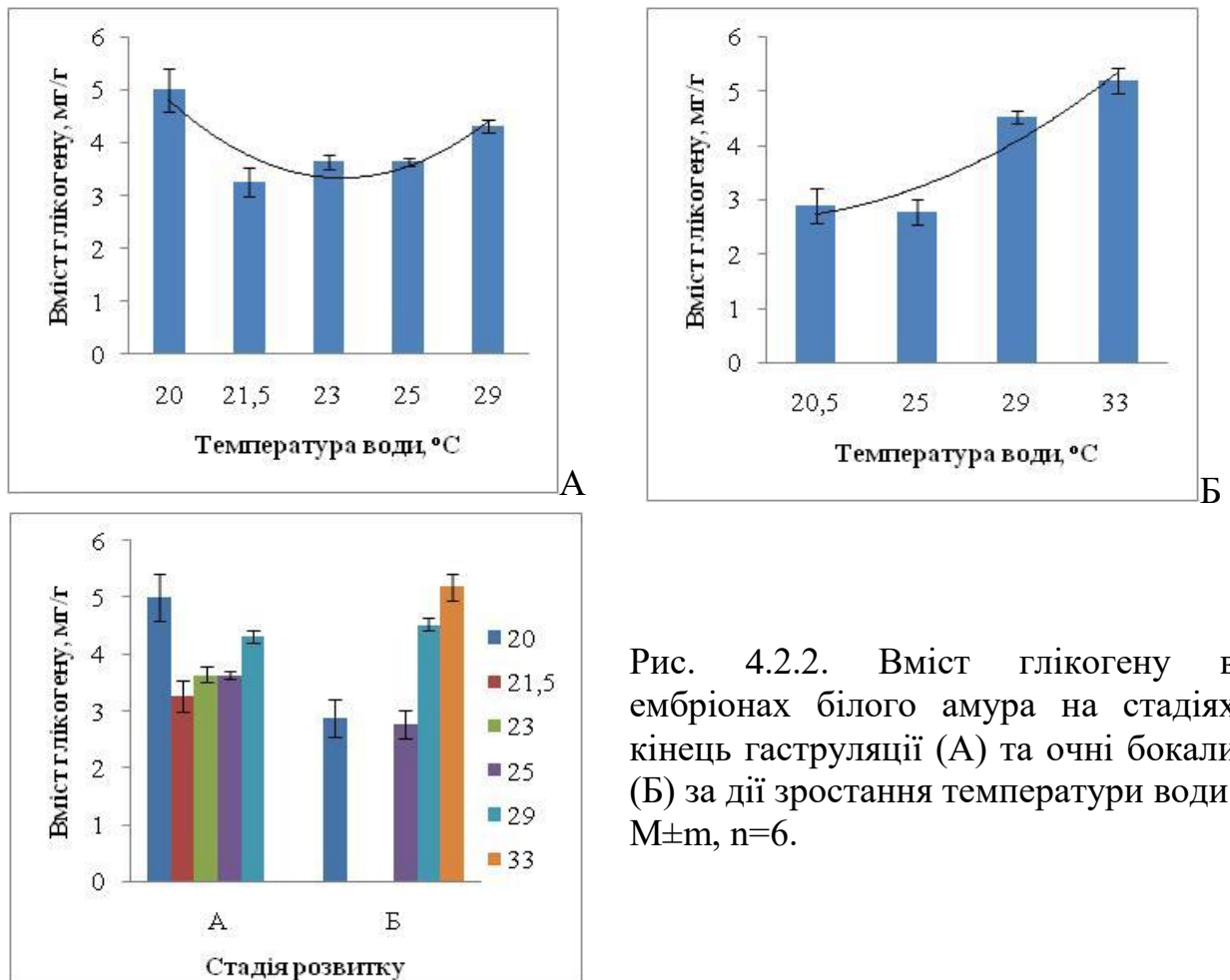


Рис. 4.2.2. Вміст глікогену в ембріонах білого амура на стадіях кінець гастрюляції (А) та очні бокали (Б) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Під час викупу передличинок білого амура відбулося зниження температури води до 21,5–25,5 °C залежно від умов окремих водойм. Протягом першої доби розвитку було зафіксовано наступну закономірність: з підвищенням температури рівень глікогену в личинках стабільно знижувався. Максимальний вміст відмічено при 22,5 °C та становив 30,71 мг/г (рис. 4.2.3). Вже при 23,5 °C величина цього показника зменшувалася на 11,5%, а мінімум його відмічено при 24,5 °C, що на 27,9% менше порівняно з максимумом. Це свідчить про зростання енерговитрат спрямованих на прискорення розвитку передличинок білого амура по мірі зростання температури води. Саме цим можна пояснити такі зміни, оскільки температура води була в межах оптимальної.

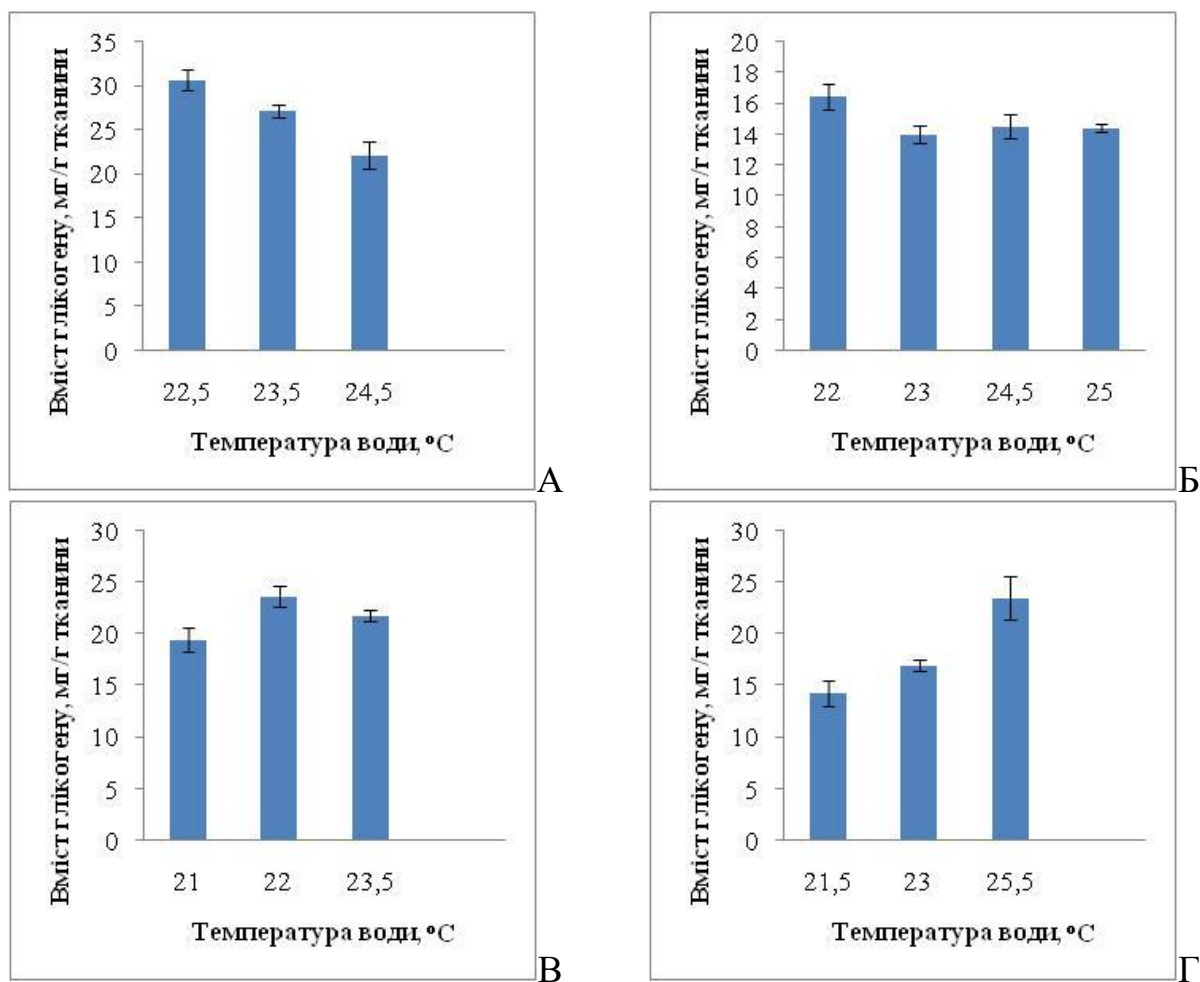


Рис. 4.2.3. Вміст глікогену в личинках білого амура за різних температур води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку

Друга доба розвитку характеризувалася стабілізацією рівнів глікогену в личинках. Максимальна величина відмічена при температурі 22°C та становила 16,45 мг/г, при діапазоні 23–25°C суттєвих коливань вмісту глікогену не помічено і він був в межах 14,03–14,39 мг/г. Наступна доба розвитку риб також відзначилася максимальним вмістом глікогену при температурі 22°C, а саме 23,62 мг/г. Це вказує на те, що протягом перших трьох днів для личинок білого амура температура води 22°C є більш сприятливою для нормального росту та розвитку з мінімальною кількістю аномалій.

Четверта доба відзначилася кардинальними змінами рівня глікогену в личинках. При цьому мінімальний його рівень (14,24 мг/г) вже було зафіксоване при температурі 21,5°C. Максимум його 23,54 мг/г відмічено за температури 25,5°C, що на 39,5% більше порівняно з мінімумом [234, 239].

Аналізуючи дані власних досліджень за вмістом глікогену в личинках білого амура протягом перших чотирьох днів досліджень можна стверджувати, що протягом перших трьох днів розвитку було характерним те, що максимальний рівень глікогену був при 22°C, а в четвертий день при цій температурі спостерігали вже мінімум. Очевидно, для личинок при переході на змішане живлення дещо збільшилась оптимальна температура (до 25,5°C).

Короп. На перших стадіях розвитку ембріонів коропа вміст глікогену коливається в доволі вузьких межах. При цьому найвищий його рівень встановлено при температурі 21°C – 37,5 мг/г, при 30°C він був менше лише на 9,5% (рис. 4.2.4). Це вказує на те, що зародки коропа почувають себе добре в дуже широкому діапазоні температур від 21 до 30°C.

На наступній стадії розвитку – рухливий ембріон спостерігалася тенденція підвищення вмісту глікогену при збільшенні температури оточуючого середовища. Мінімальна його кількість в зародках коропа була – зафіксована при 23°C – 20,7 мг/г, а максимальна – при 31°C (34,8 мг/г), що на 40% більше порівняно з мінімальним рівнем.

На стадії пігментації очей з підвищенням температури рівень глікогену дещо зменшується, хоч і не в значних межах. При температурі води 28°C в ембріонах містилось менше глікогену на 14,4% порівняно з 23°C.

На підставі отриманих даних з вмісту глікогену в зародках коропа протягом всього ембріонального розвитку можна дійти висновку, що цей вид риб цілком нормально розвивався в усьому діапазоні досліджуваної температури. Проте, більш оптимальною температурою води для ембіогенезу була 25–26°C. З подальшим її підвищенням до 30°C і більше спостерігалися значні аномалії розвитку зародків, що пояснюється інтенсифікацією метаболізму і неможливістю ембріонами вчасно і в достатній кількості синтезувати необхідні білки й глікоген. Нестача цих сполук на конкретній стадії розвитку й спричиняє утворення аномалій.

В першу добу розвитку личинок коропа спостерігався хвилеподібний характер змін в них вмісту глікогену залежно від температури води. Личинки

знаходились в доволі широкому діапазоні температур 22–28°C (рис. 4.2.5). Найбільш оптимальною температурою виявилась температура 22°C, при якій був встановлений максимальний рівень глікогену, мінімум його був відмічений при 26,5°C. Слід також відмітити відсутність помітних змін величини цього показника в усьому діапазоні температури. Це свідчить про те що личинки коропа нормально розвивалися та повністю встигали забезпечити синтез нових сполук. Проте при температурах вище 27°C суттєво підвищувався рівень аномалій розвитку личинок та змінювалися їх масово-розмірні характеристики. Вони мали меншу довжину та масу порівняно з вільними ембріонами при температурі 22°C.

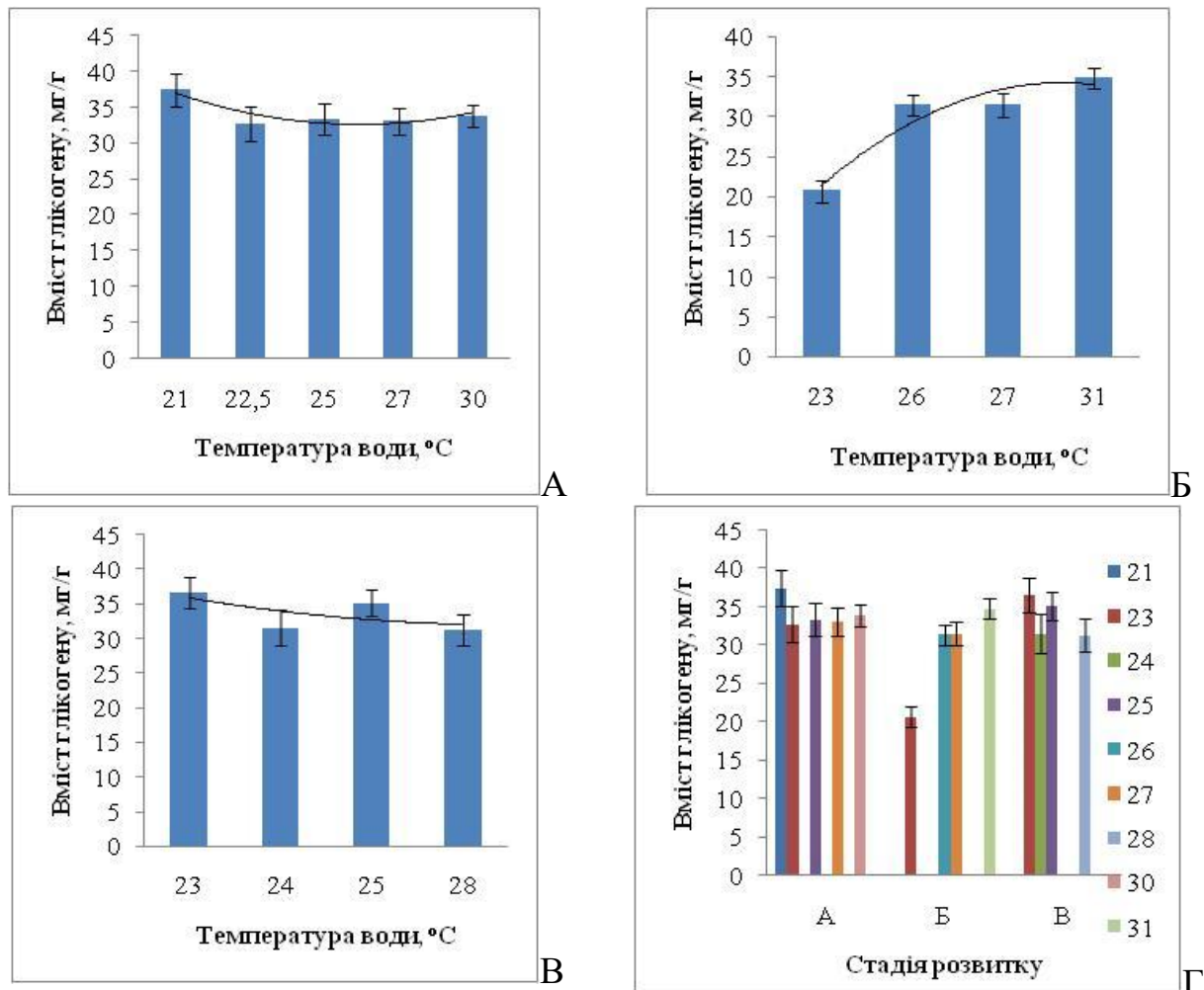


Рис. 4.2.4. Вміст глікогену в ембріонах коропа на стадіях відділення хвоста (А), рухливий ембріон (Б) та пігментації очей (В) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

На другу добу значних змін вмісту глікогену в тканинах ми також не спостерігали. Але простежувалася наступна тенденція: з підвищенням

температури води рівень глікогену в личинках поступово збільшувався та досягав свого максимуму при 27,5°C. Це свідчить про те, що личинки коропа мали велику адаптаційну здатність до широкого температурного діапазону, але при достатньому насиченні води киснем.

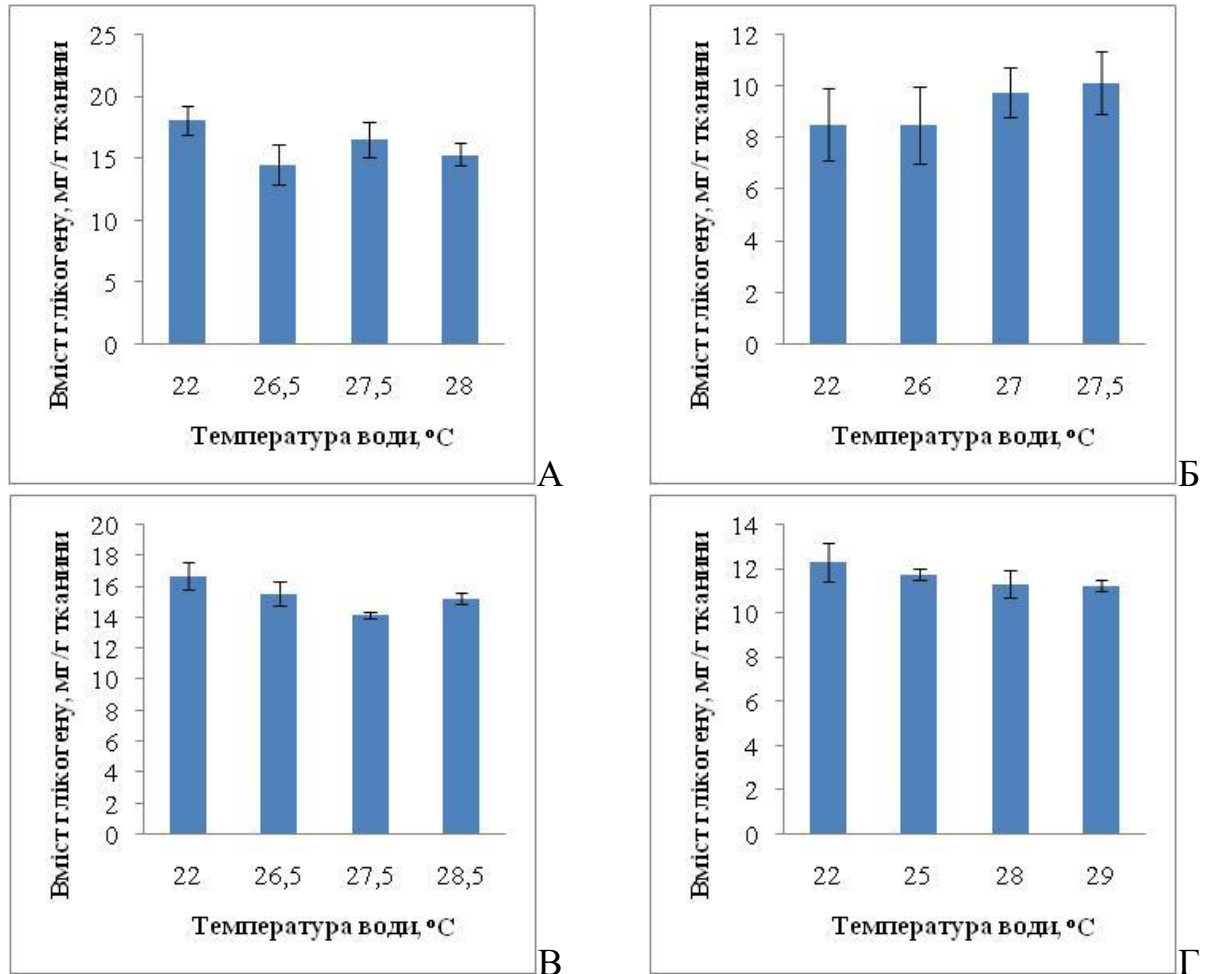


Рис. 4.2.5. Вміст глікогену в личинках коропа за різної температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку.

На третю та четверту добу розвитку личинок максимальний рівень глікогену спостерігався при температурі води 22°C. З її підвищенням величини цього показника поступово зменшується, але не вірогідно.

Таким чином, у личинок коропа є доволі висока адаптивна здатність до температурного режиму водойми. Підтвердженням тому може служити високий вміст глікогену в тканинах без різких його коливань протягом чотирьох діб постембріонального розвитку. Але дані морфологічних досліджень вказують на те, що при високих температурах 28–30°C в умовах

низьких концентрацій розчиненого кисню суттєво підвищувалася рівень аномалій розвитку личинок та зменшувалися їх масово-розмірні характеристики.

Окунь. Для окуня на початкових стадіях ембріонального розвитку (кінець гастрюляції) з підвищенням температури оточуючого середовища рівень глікогену поступово знижувався (рис. 4.2.6). Максимальна його кількість зафіксована при 10,2°C і становила – 9,38 мг/г, а мінімум був на 10,6% менше (8,38 мг/г) при 11,2°C.

На наступній стадії розвитку (очні бокали) спостерігалось загальне зниження температури води у дослідних водоймах на 1,5–2,0°C. Саме тому вміст глікогену в ембріонах окуня з різних водойм поступово вирівнювався до 9,09–9,37 мг/г, при цьому діапазон температур був не значним – 8,7–9,1°C.

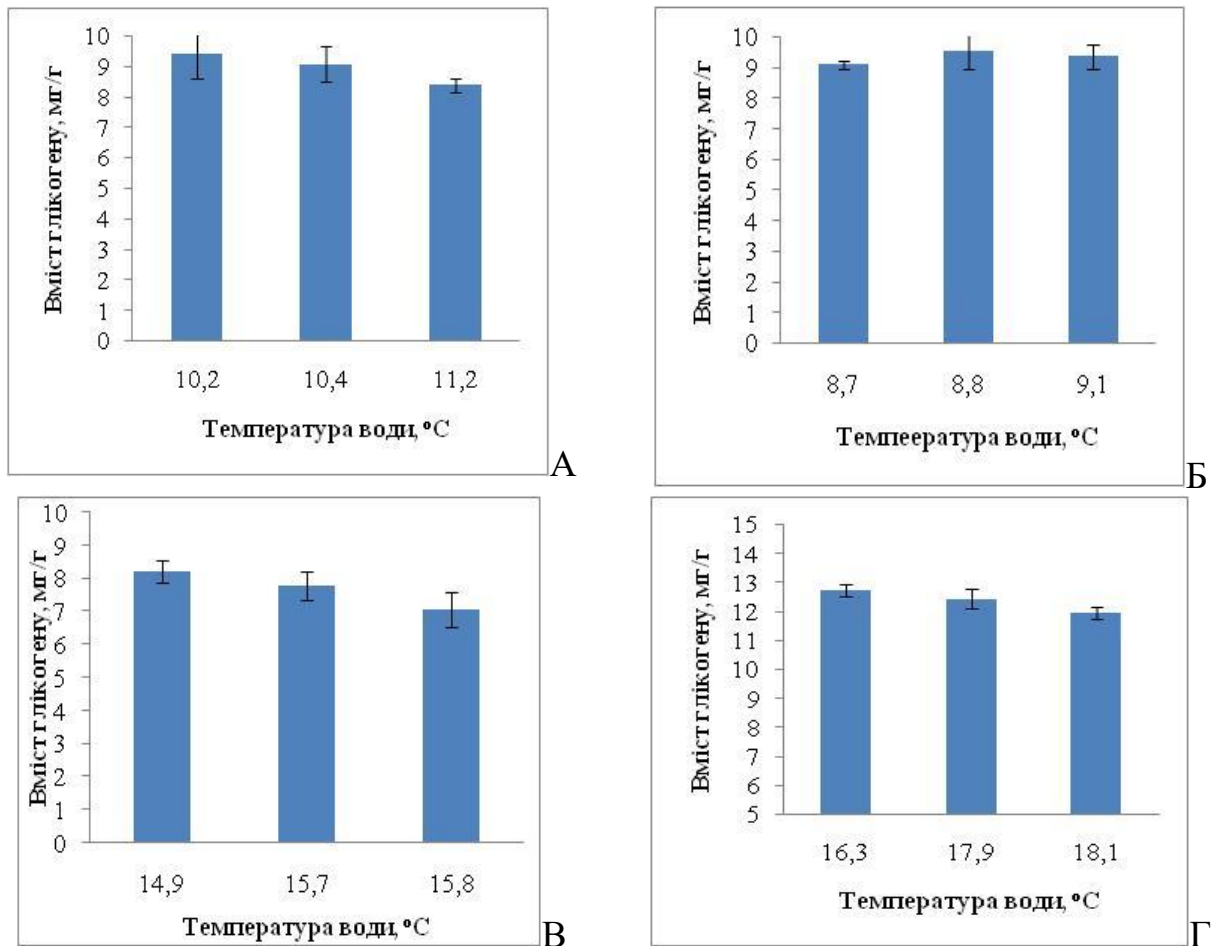


Рис. 4.2.6. Вміст глікогену в ембріонах та передличинках окуня на стадіях кінець гастрюляції (А), очні бокали (Б), пігментації очей (В) та передличинки (Г) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

На стадії пігментації очей помітно зросла температура води до 14,9–15,8°C, а по мірі її підвищення рівень глікогену в личинках знижувався. Це свідчить про те, що для розвитку окуня оптимальними температурами є її величина в нижній частині дослідженого діапазону. Максимум вмісту глікогену відмічено при 14,9°C (8,21 мг/г), а мінімум (7,06 мг/г) при 15,8°C, що на 14% менше.

Таким чином, за вмістом глікогену в ембріонах та передличинках окуня для їх розвитку можна стверджувати, що оптимальною температурою є 9–14°C, але з її підвищенням до 16–18°C цей вид риб добре пристосовувався особливо на личинкових стадіях розвитку.

Плітка. Для цього виду риб на ранніх стадіях розвитку (кінець гастрюляції) спостерігалася зворотня залежність між температурою води та рівнем глікогену в зародках (рис. 4.2.7). Його максимум було зафіксовано при 16,9°C (13,93 мг/г), а мінімум, який на 15,6% менше, при 18,5°C. Це вказує на те, що для ембріонів плітки на цій стадії кращою з досліджуваних температур для розвитку є 16,9°C. Саме за цих умов організм більш економно використовував енергетичні запаси та встигав їх поновлювати.

Подібну ж закономірність відмічено на наступному етапі розвитку (очні бокали). Максимальна кількість глікогену в ембріонах відмічена при 15°C та становила 10,48 мг/г. З підвищенням температури води всього на 1,2°C (до 16,2°C) рівень глікогену знизився на 42% до 6,08 мг/г. Мінімум глікогену було зафіксовано при 16,9°C, що на 47% менше порівняно з максимальним. Це вказує на те, що для ембріонального розвитку плітки температурний оптимум знаходиться нижче за 16,0°C, що відповідає кліматичній нормі під час природного нересту плітки. Це підтверджується і даними за вмістом глікогену на наступній стадії розвитку. Таким чином, результати власних досліджень чітко вказують на те, що оптимальний діапазон температури для ембріонального розвитку плітки є 14–16°C.

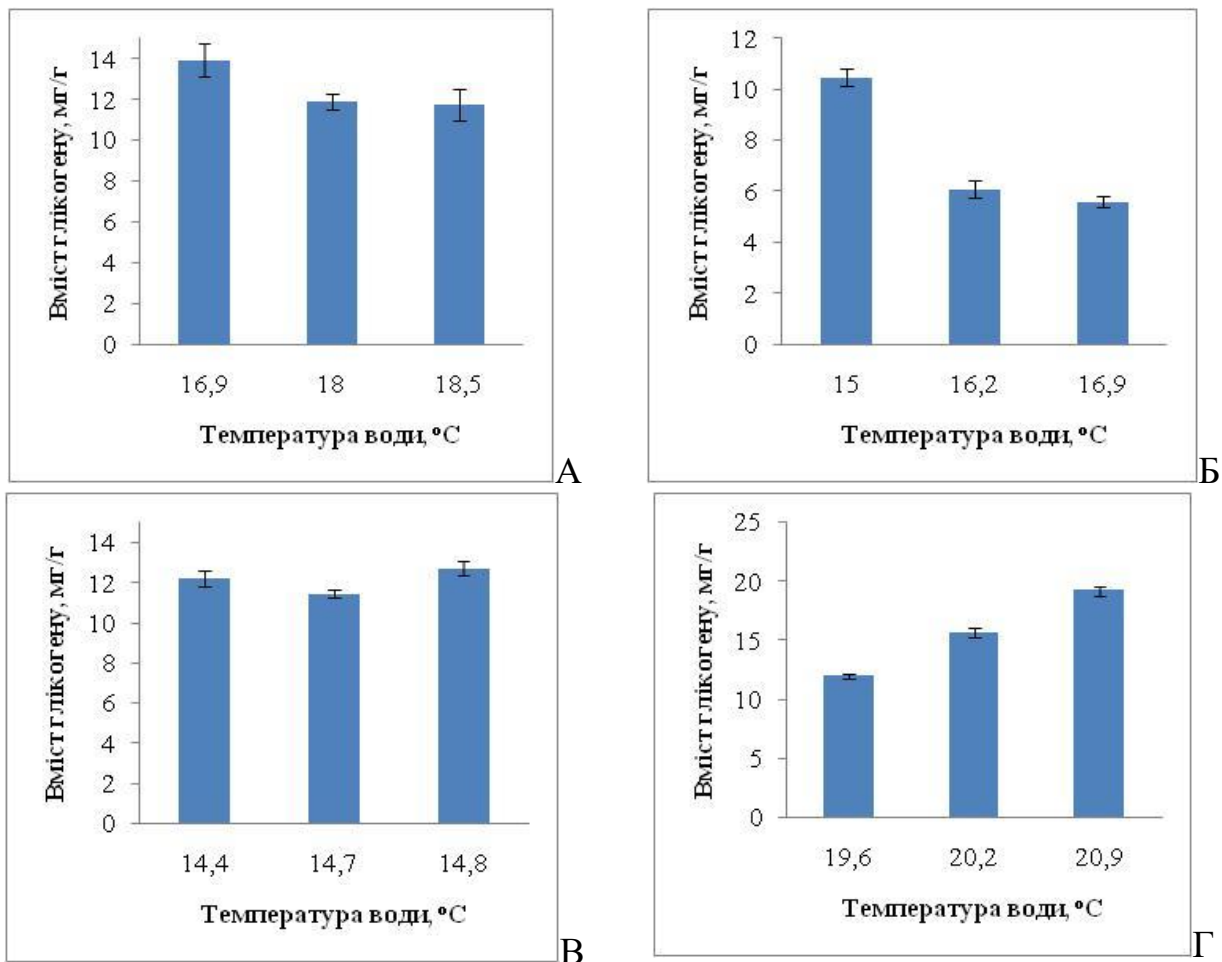


Рис. 4.2.7. Вміст глікогену в ембріонах та передличинках плітки на стадіях кінцев гастрюляції (А), очні бокалі (Б), пігментації очей (В) та передличинки (Г) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Проте за даними по вмісту глікогену вже після вилуплення для передличинок діапазон оптимальних температур збільшується (див. рис. 4.2.7).

Таким чином, для нормального ембріонального розвитку плітки оптимальними температурами є 14–16°C, на постембріональних стадіях – 20–21°C.

Йорж. Під час ембріонального розвитку йоржа на ранніх стадіях розвитку (кінцев гастрюляції) в піддослідних водоймах температура води коливалася від 13,6 до 14,5°C. Саме тому не помічено значних змін вмісту глікогену в ікрі (рис. 4.2.8). Наступна стадія розвитку (очні бокалі) проходила при більш широкому діапазоні температури 16,3–18,8°C. Тому помітна тенденція збільшення вмісту глікогену з ростом температури води, що свідчить про пристосованість ембріонів йоржа до широких її меж. Максимальна його

кількість була зафіксована при температурі 18,8°C (12,42 мг/г), а мінімальна при 16,3°C (11,23 мг/г), яка була меншою на 9,6%.

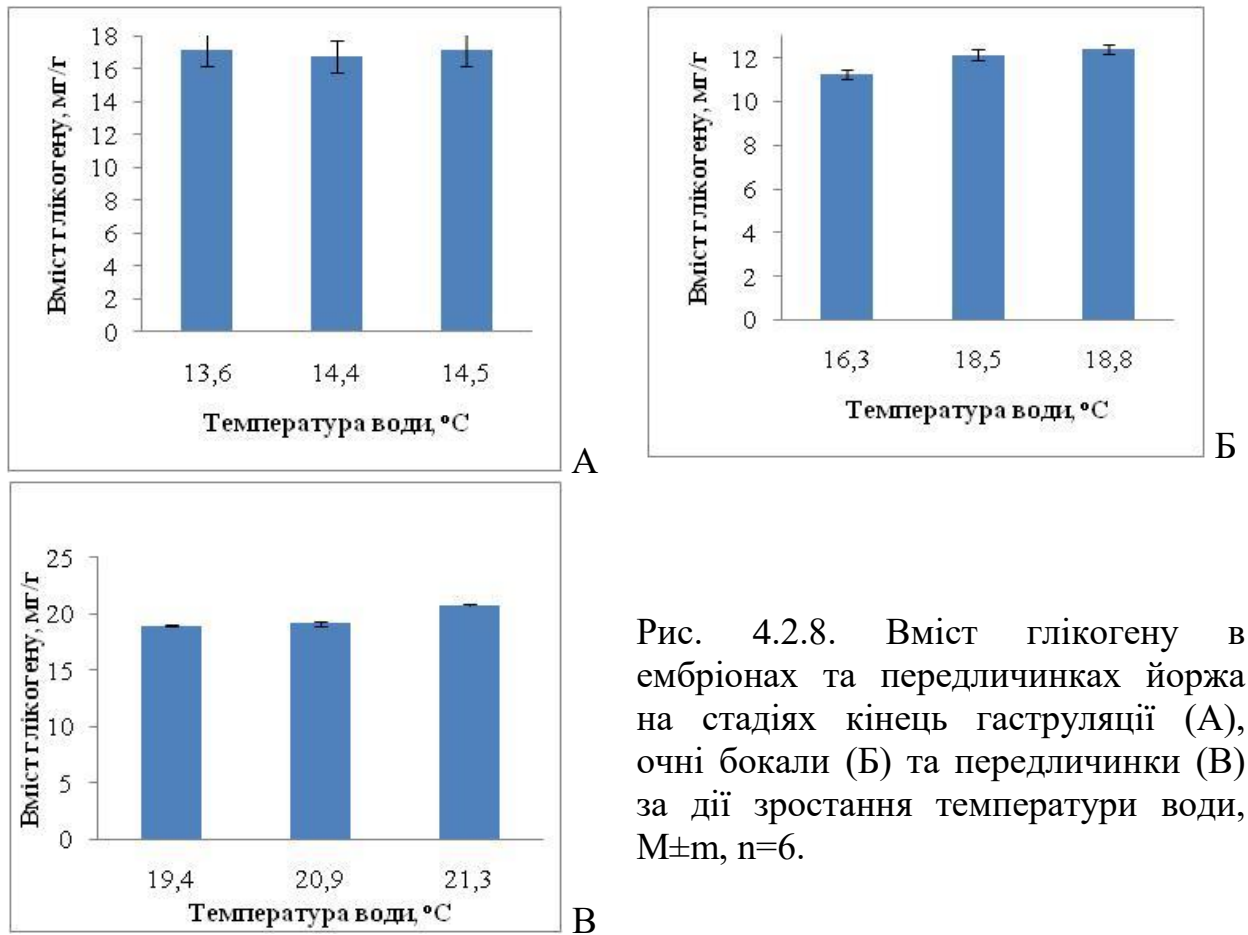


Рис. 4.2.8. Вміст глікогену в ембріонах та передличинках йоржа на стадіях кінець гастрюляції (А), очні бокали (Б) та передличинки (В) за дії зростання температури води, $M \pm m$, $n=6$.

На стадії передличинки зберігається тенденція, коли зі збільшенням температури води вміст глікогену зростає. Максимальний його рівень відмічено при 21,3°C (20,67 мг/г), а мінімальний при 19,4°C (18,95 мг/г), що на 6,1% менший.

На підставі отриманих даних можна стверджувати, що на ембріональних стадіях розвитку йоржа оптимальні температури води знаходяться в нижчих межах, ніж на постембріональних.

4.3. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на вміст ліпідів в ембріонах та передличинках риб.

Білий амур. Дослідження вмісту ліпідів в личинках білого амура проведені протягом перших чотирьох діб їх розвитку. У першу добу

максимальний рівень ліпідів був при температурі води 24,5°C, а саме 29,72 мг/г тканини (рис. 4.3.1.). При зменшенні температури величина цього показника знизилася на 7,7–12,8%. На другу добу чітких закономірностей змін вмісту ліпідів в личинках білого амура нами не виявлено. Він змінювався хвилеподібно в усьому діапазоні досліджуваних температур. Можливо, у даному випадку спостерігався сумісний вплив кисневих умов водойм та температури води. Проте можна стверджувати, що весь діапазон температури від 22 до 25°C не виходить за межі оптимальних величин для розвитку личинок білого амура.

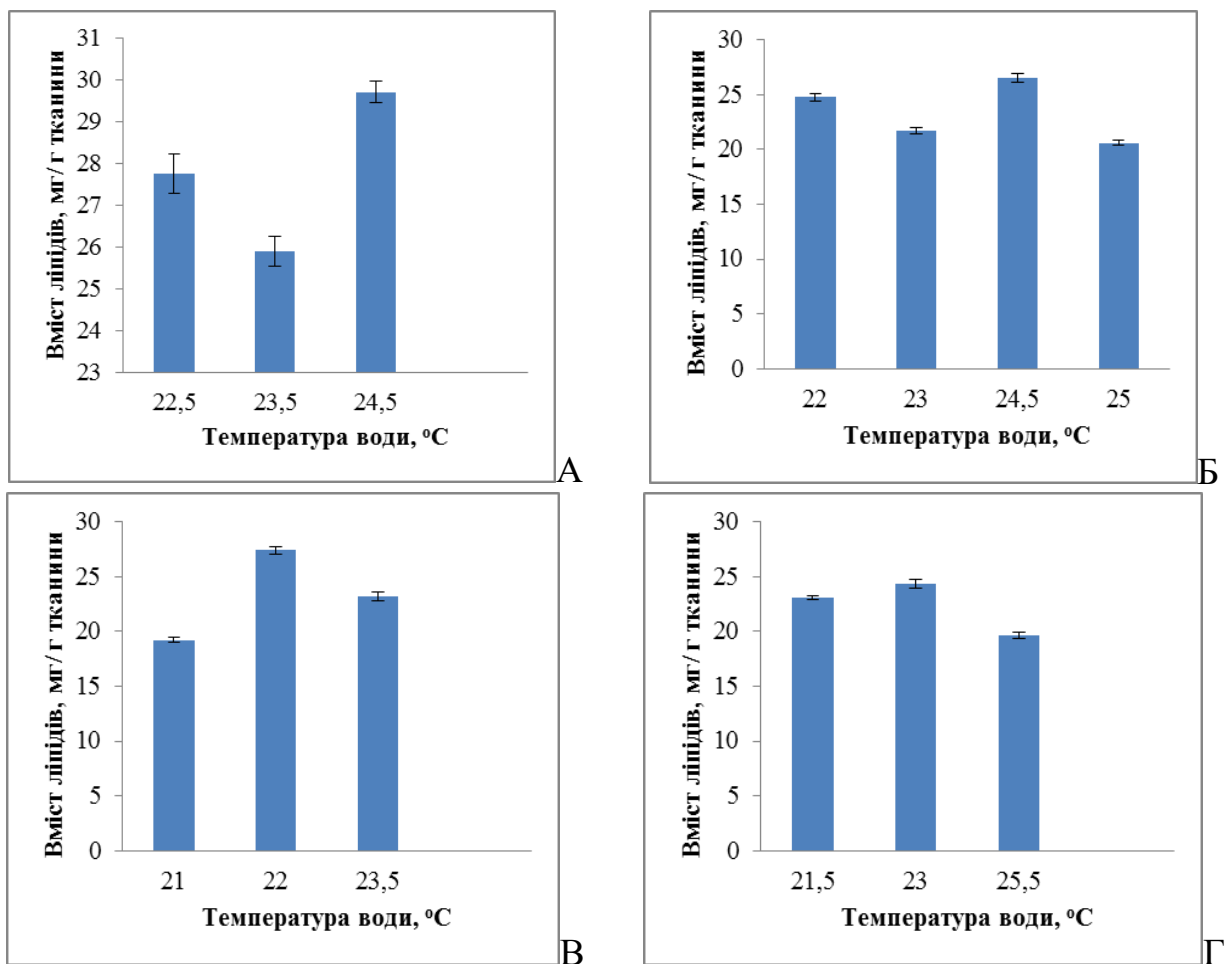


Рис. 4.3.1. Вміст ліпідів в личинках білого амура за різних температур води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку

Третя доба розвитку, як і четверта, також характеризувалася хвилеподібними змінами величини досліджуваного показника. Слід відзначити, що в період проведення досліджень суттєвих відмінностей температурного режиму між водоймами не спостерігалось. Нами відмічена на третю добу

велика різниця за вмістом ліпідів між двома температурами 21°C та 22°C, при яких зафіксували відповідно 19,24 та 27,42 мг/г тканини. В останню добу досліджень при 21,5°C відмічено високий вміст ліпідів (23,08 мг/г тканини). З підвищенням температури до 23°C величина цього показника збільшилася на 5,25% до 24,36 мг/г тканини. Мінімум глікогену був зафіксований при 25,5°C та становив – 19,68 мг/г тканини, що на 19,2% менше порівняно з максимумом.

Таким чином, температурний діапазон під час розвитку личинок був в межах 21–25,5°C та не виходив за межі оптимальних для білого амура. Проте при цьому можна стверджувати, що температура 22–24°C є більш сприятливою для нормального розвитку личинок.

Короп. Мінімальний вміст ліпідів спостерігався в першу добу розвитку передличинок коропа при крайніх величинах досліджуваного температурного діапазону при 22 та 28°C та становили 31,89 і 30,45 мг/г відповідно (рис. 4.3.2). Максимум ліпідів (36,54 мг/г) зафіксовано при 26,5°C, що на 16,7% більше порівняно з мінімумом. Також, слід відмітити високий рівень ліпідів за температури 27,5°C.

На другу добу розвитку личинок при однаковій температурі води характерним є те, що зберігається подібна закономірність, як і першу. Максимальний вміст ліпідів в личинках був в діапазоні температур 26–27,5°C. Це свідчить про добру пристосованість личинок коропа до підвищеної температури. За цих умов відмічено незначну утилізацію запасних речовин, зокрема ліпідів. Мінімальний рівень ліпідів відмічено за температури 22°C та становив 13,43 мг/г, а максимальний 23,11 мг/г при 27,5°C, різниця при цьому становить 41,9%.

Третій день розвитку передличинок відзначився значною зміною рівня ліпідів, яка мала хвилеподібний вигляд (рис. 4.3.2.) залежно від температури води, але відмінності не були вірогідними. Було відмічено максимальний рівень цього показника за двох температур – 22 та 27,5°C, який становив 20,67 і 20,68 мг/г відповідно. Слід відмітити, що мінімальна кількість їх також, була зафіксована за двох температур – 26,5°C та 28,5°C. Це свідчить про те, що в

цьому діапазоні досліджуваних температур личинки коропа почували себе задовільно, оскільки різниця за вмістом ліпідів була не вірогідною 3,6%.

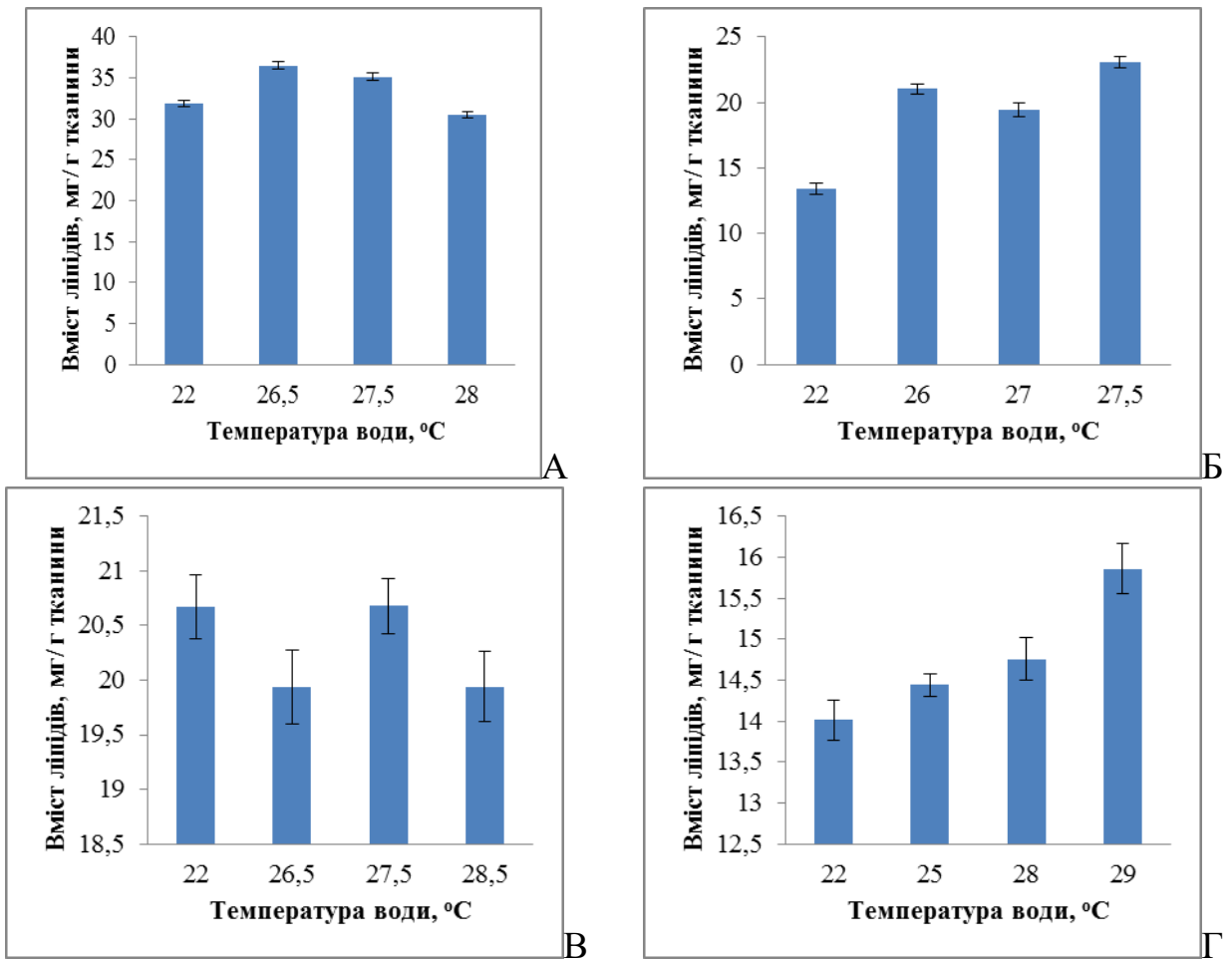


Рис. 4.3.2. Вміст ліпідів в личинках коропа за різних температур води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку

При закінченні передличинкового розвитку коропа чіткою була закономірність зміни вмісту ліпідів в ембріональних тканинах залежно від умов середовища. Слід відмітити, що і температурний діапазон дещо розширився до 22–29°C. Мінімум ліпідів було зафіксовано при температурі 22°C та становив 14,01 мг/г. З наступним підвищенням температури рівень ліпідів також стабільно збільшувався та досягнув свого максимуму 15,86 мг/г при температурі 29°C, що на 11,7% більше порівняно з мінімумом. Це вказує на те, що личинки коропа на збільшення температури оточуючого середовища реагують меншим використанням запасних сполук, зокрема ліпідів. Саме в цей період вони переходили на зовнішнє живлення. Це, в свою чергу, є

підтвердженням високої пристосованості цього виду риб до широкого діапазону змін температури.

Протягом всіх днів досліджень личинки коропа показали високі адаптивні можливості до широкого діапазону температури, на що вказує стабільно високий рівень ліпідів. Проте, найбільш оптимальними температурами все ж є 22–24°C, що підтверджується морфологічними дослідженнями. Саме при цих температурах личинки мають більші розміри, масу та менший відсоток аномалій розвитку.

Окунь. Важливим показником адаптивних можливостей ембріонів риб до зміни умов середовища є рівень ліпідів в організмі. Саме тому за цим показником і були досліджені аборигенні види риб – окунь, плітка та йорж.

В заплідненій ікрі окуня було відмічено високий вміст ліпідів – 128,8 мг/г при температурі води 9,8°C (рис. 4.3.3). На стадії кінець гастрюляції вміст ліпідів стабільно високий в усьому діапазоні досліджуваної температури від 10,2 до 11,2°C. Цей діапазон температури відповідає природному під час нересту окуня.

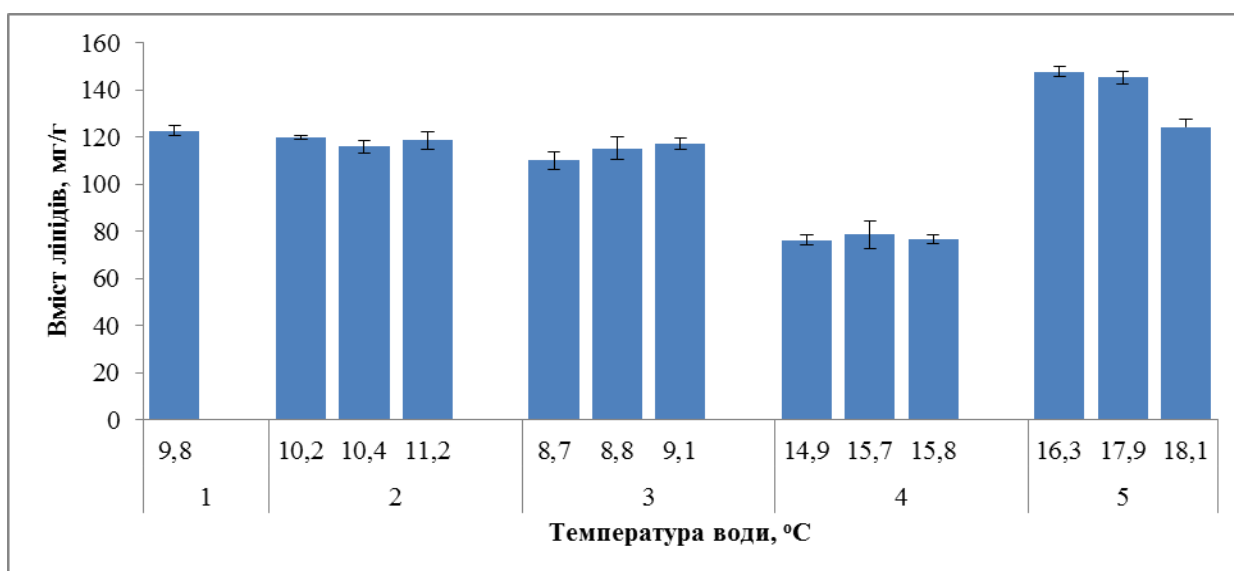


Рис. 4.3.3. Вміст ліпідів в ембріонах та передличинках окуня на різних стадіях їх розвитку, за різних екологічних умов водного середовища, $M \pm m$, $n=6$. Примітка: стадії розвитку 1 – запліднена ікра; 2 – кінець гастрюляції; 3 – очні бокалі; 4 – пігментація очей; 5 – передличинки

Під час стадії очних бокалів температура води знизилась у всіх водоймах до 8,7–9,1°C. При цьому спостерігалася тенденція, коли при більшій

температурі води вміст ліпідів в ембріонах був вищим. Мінімальна їх величина була зафіксована при 8,7°C та становила 110,1 мг/г, а максимум – 117,4 мг/г відмічений при 9,1°C, що на 6,2% більше.

Вже для наступної стадії розвитку (пігментація очей) суттєво підвищилася температури води до 14,9–15,8°C порівняно з періодом попередніх стадій. За цих умов вміст ліпідів в ембріонах істотно знизився, але значних відмінностей між різними групами не спостерігалось.

Суттєві зміни залежні від температури води по вмісту ліпідів в зародках відбулися під час постембріонального розвитку (див. рис. 4.3.3). В цей час значно розширився діапазон температури оточуючого середовища до 16,3–18,1°C. Максимальний вміст ліпідів 147,8 мг/г зафіксовано при температурі 16,3°C. По мірі підвищення температури рівень ліпідів в передличинках знижувався та досягав свого мінімуму 124,3 мг/г при 18,1°C, що на 15,9% менше порівняно з максимумом.

Підсумовуючи отримані дані за вмістом ліпідів в ембріонах та передличинках окуня можна стверджувати, що рівень ліпідів в зародках не змінюється в діапазоні температур наближених до 8,7–11,2°C. Це є кліматичною нормою для ембріонального розвитку окуня. Проте, вже після вилуплення при зростанні температури води передличинки втрачають більшу кількість запасних ліпідів, за цих умов їх розвиток прискорюється.

Плітка. Також, на вміст ліпідів були досліджені й ембріони та передличинки плітки. Одразу після запліднення в ікрі вміст ліпідів був 103,8 мг/г при температурі оточуючого середовища 15,2°C (рис. 4.3.4).

На стадії кінець гастрюляції відбулось значне підвищення температури води на 1,7–3,3°C. Максимальний вміст ліпідів зафіксовано при температурі 16,9°C та становив 111,1 мг/г, а мінімальний – 97,7 мг/г при температурі 18,5°C, що на 12% менше. Це свідчить, що для нормального раннього ембріогенезу плітки потрібна температури води 16–17°C.

Наступна стадія розвитку (очні бокали) проходила при деякому зниженні на 1,5–2,0°C температури води порівняно з попередньою стадією. Слід

відмітити високий рівень ліпідів у ікрі на всьому діапазоні температур. Максимум ліпідів у ікрі відмічено при 15°C – 112,8 мг/г, а мінімум при 16,9°C – 99,4 мг/г, що на 11,8% менше.

Стабільно високий вміст ліпідів у ікрі може свідчити про сприятливість цієї температури (15–16,9°C) для розвитку ембріона і вказує на те, що організм повністю себе забезпечує енергією та синтезує нові сполуки.

Температура оточуючого середовища продовжувала знижуватися й протягом наступної стадії – пігментації очей та досягла 14,4–14,8°C у всіх водоймах. Відмічено невірогідну тенденцію зміни вмісту ліпідів в ембріонах при зниженні температури води. Мінімальна їх кількість була зафіксована при температурі 14,4°C та становило 94,5 мг/г. Проте вже після вилуплення зародків на стадії передличинки значно підвищилася температура води. Максимальний вміст ліпідів був при температурі 19,6°C та становив 159,5 мг/г, при збільшенні температури величина цього показника вірогідно знижувалася. Його мінімум 123,9 мг/г ми зафіксували при температурі 20,9°C, що на 22,3% менше порівняно з максимумом.

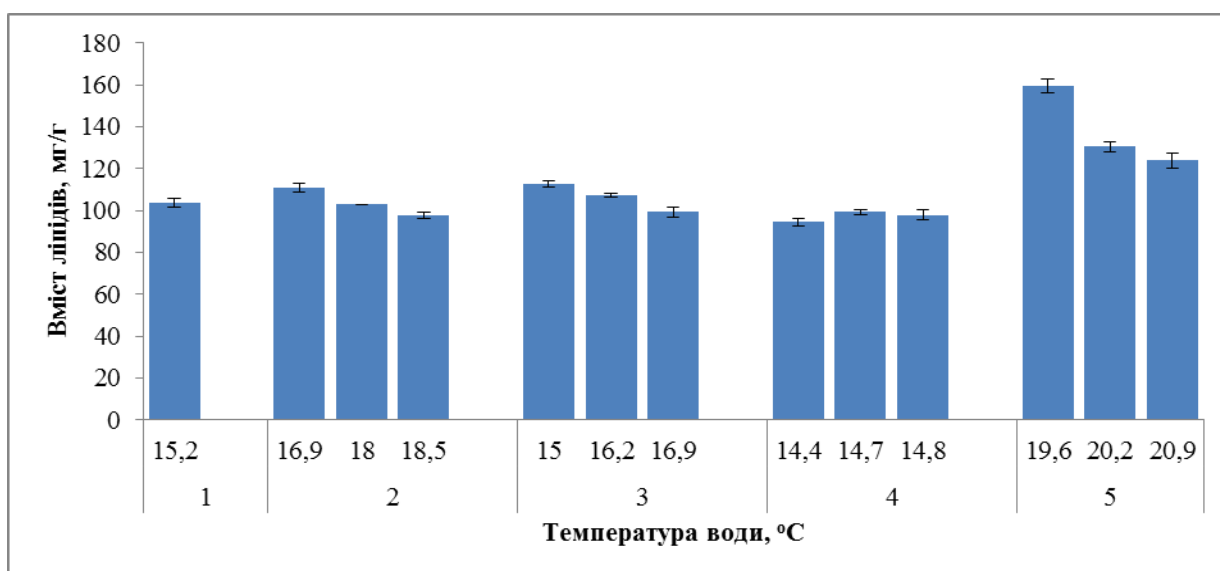


Рис. 4.3.4. Вміст ліпідів в ембріонах та передличинках плітки на різних стадіях розвитку за дії екологічних умов водного середовища, $M \pm m$, $n=6$. Примітка: стадії розвитку 1 – запліднена ікра; 2 – кінець гастрюляції; 3 – очні бокали; 4 – пігментація очей; 5 – передличинки.

Аналізуючи коливання рівня ліпідів в ембріонах плітки залежно від змін температури води можна дійти висновку, що на різних стадіях ембріонального

розвитку їх вміст більший при температурі 15–17°C. За межами цього діапазону він зменшувався. Проте, вже на стадії передличинки рівень оптимальних температур зростав до 19°C.

Йорж. Під час ембріогенезу йорж за рівнем вмісту ліпідів в зародках швидко реагував на зміну умов середовища. Цей показник відображав сприятливі умови для розвитку організму за різних температур. В заплідненій ікрі містилось 98,98 мг/г ліпідів при температурі 9,2°C (рис. 4.3.5.). Вже на стадії «кінець гастрюляції» максимальний їх вміст 93,2 мг/г було зафіксовано при температурі 13,6°C, а мінімальний – 60,6 мг/г при 14,5°C, що на 35% менше.

На наступній стадії розвитку (очні бокали) у водоймах відбулось значне підвищення температури води на 2,5–4,3°C, що, в свою чергу, суттєво вплинуло на рівень ліпідів. Максимальний їх рівень 67,5 мг/г був при 16,3°C, а мінімальний – 54,88 мг/г при 18,8°C, що на 18,7% менше.

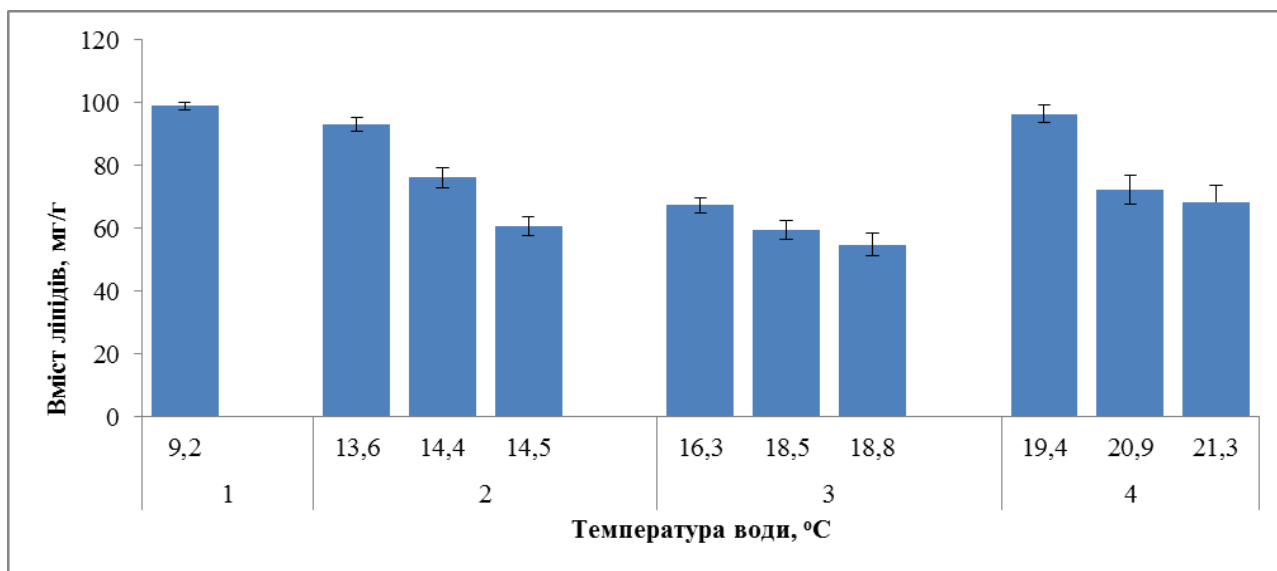


Рис. 4.3.5. Вміст ліпідів в ембріонах та передличинках йоржа на різних стадіях розвитку, за дії екологічних умов водного середовища, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: стадії розвитку 1 – запліднена ікра; 2 – кінець гастрюляції; 3 – очні бокали; 4 – передличинки

Під час стадії передличинки температура води продовжувала збільшуватись та досягла 19,4–21,3°C. Максимальна кількість ліпідів (96,5 мг/г) була відмічена при 19,4°C, а мінімальна (68,5 мг/г) при температурі 21,3°, що на 29% менше.

Таким чином, при перевищенні кліматичної норми підчас розвитку йоржа його ембріони та личинки втрачають більшу кількість ліпідів, які використовувалися для забезпечення адаптаційних процесів та на прискорення темпів їх розвитку.

Таким чином, з наведених вище результатів власних досліджень видно, що ембріони коропа можуть вдало адаптуватися до високої температури зовнішнього середовища (до 31°C), але тільки при достатньому вмісті розчиненого кисню в воді (4,5–5,8 мг/дм³). Мінімальні рівні білка в личинках знаходилися в середній частині діапазону температури води (26,5°C). Як з підвищенням, так і зі зниженням температури оточуючого середовища його вміст поступово збільшувався, досягаючи максимуму при крайніх температурах (22°C та 28°C). Для зародків коропа оптимальним діапазоном температури для ембріонального розвитку є 22–24°C. За цих умов відмічено мінімальну кількість їх аномалій. Протягом чотирьох днів постембріонального розвитку був стабільно високим рівень білків, ліпідів та глікогену, але найбільший їх вміст відмічено при температурі 24–26°C. Саме ця температура є більш оптимальною. Це підтверджується морфологічними дослідженнями ембріонів.

Судячи з вмісту білка, ліпідів та глікогену можна стверджувати, що для ембріонів білого товстолобика на ранніх етапах оптимальна температура води має більш широкий діапазон (23–28°C), ніж на пізніх стадіях його розвитку (23–25°C). Також, на передодні вилуплення вони потребують значної кількості розчиненого кисню у воді для енергетичного забезпечення метаболічних процесів аеробним шляхом. Саме на пізніх стадіях розвитку починають формуватися нові тканини, органи, системи органів тощо.

У білого амура адаптивні можливості до температурного та кисневого режиму водойми вищі порівняно з білим товстолобиком, що підтверджується його високою життєздатністю. В личинках цього виду риб протягом перших трьох діб розвитку характерним є те, що максимальний рівень глікогену був при температурі 22°C, а в четверту добу при цій температурі спостерігали вже

його мінімум. Очевидно, для личинок при переході на змішане живлення оптимальна температура дещо збільшилась до 25°C.

Оскільки, ембріогенез окуня відбувався ранньою весною, коли температура на природніх нерестовищах не коливається в широкому діапазоні, тому не було відмічено різких коливань рівня білків. За нашими даними можна вважати оптимальною температурою для ембріонального розвитку окуня на рівні 9–11°C. Ембріони та передличинки цього виду швидко реагують на зміну умов оточуючого середовища, зменшуючи синтез нових білків при підвищенні температури навіть при незначному на 0,4–1,0°C, не зважаючи на оптимальну насиченість води киснем. За вмістом глікогену та ліпідів в його ембріонах та передличинках оптимальною температурою для розвитку є 9–14°C, але з її підвищенням до 16–18°C цей вид риб добре пристосовується на личинкових стадіях розвитку.

За вмістом білків в зародках йоржа видно, що найбільш оптимальним діапазоном температур для його ембріонального розвитку є 14–16°C. Проте вже на стадії передличинки оптимальний температурний режим зростає до 19,4°C. Важливим показником адаптивних можливостей ембріонів риб до зміни умов середовища є рівень ліпідів в організмі. Під час ембріогенезу йоржа вміст ліпідів в зародках швидко реагував на зміну умов середовища та відображав сприятливість різних температур для розвитку організму. При перевищенні кліматичної норми ембріони та личинки йоржа втрачали значну кількість ліпідів, які використовувалися на забезпечення адаптаційних процесів до діючого чинника та на прискорення їх розвитку. За цим показником ембріональний розвиток йоржа більш сприятливо проходить при 15–16°C, проте вже на стадії передличинок величина температурного оптимум зростала і становила 19–20,9°C.

Для ембріонів плітки відмічено, що в температурному діапазоні 14,4–16,9°C синтез нових білків та утілізація запасних білків стабільні без різких коливань, що свідчить про оптимальність цієї температури для ембріонального розвитку плітки. З подальшим підвищенням температури оточуючого

середовища до 18,5°C ми спостерігали істотне збільшення вмісту білків. Це може свідчити про прискорення розвитку ембріонів та синтезу необхідних білків, ембріони швидко пристосовуються до нових умов існування. Про це свідчить і той факт, що вже на стадії передличинки плітки цілком нормально витримували діапазон температур від 19,6°C до 20,9°C без збільшення відсотку аномалій їх розвитку, але за умови достатнього насичення води киснем. Рівень ліпідів в ембріонах плітки також залежить від температури води, найбільший їх вміст на різних стадіях ембріонального розвитку спостерігається при температурі 15–17°C. За межами цього діапазону величина цього показника зменшувалася. Проте, вже на стадії передличинки рівень оптимальних температур різко збільшувався до 19°C.

4.4. Зміни вмісту загального білка, ліпідів, глікогену в гонадах та плодючість краснопірки (*Scardinius erythrophthalmus* L.) за дії температури та вмісту розчиненого кисню у воді.

Відомо, що самки краснопірки *Scardinius erythrophthalmus* (L.) досягають статевої зрілості на 2–3 році життя при довжині тіла 12–13 см та масі 30–50 г. Нерест риб проходить в квітні-травні при температурі води 12–18°C. Абсолютна плодючість становить 7–200 тис. ікринок.

Нами проведені дослідження самок краснопірки, які перебували в різних водоймах та різних температурних умовах. Інші гідрохімічні умови істотно не відрізнялися. Температура води у Середньому білоцерківському водосховищі (р. Рось) протягом червня коливалася в достатньо вузьких межах від 20,9–23,5°C, липня – 20,2–25,2°C, сума тепла за весь період була 1146 градусо-днів. В протилежність цьому в досліджуваних водоймах температурні коливання були доволі значними: водойма № 1 – 18,7–25,5 та 18,9–27,9°C, водойма № 2 – 20,5–30,9 та 19,5–30,2°C відповідно. Сума тепла за період дослідження в цих водоймах становила 1213,2 та 1292,2 градусо-днів відповідно.

Також більш стабільною концентрацією розчиненого кисню характеризувалося водосховище на р. Рось. Його концентрація на 4-у год. ранку була від 6,5 до 8,8 мг/дм³. Для експериментальних водойм були характерні істотні коливання величини цього показника, який становив для водойми № 1 4,8–9,8 мг/дм³ та водойми № 2 4,2–8,0 мг/дм³ і залежав від температури оточуючого середовища.

Таким чином температурні та кисневі умови для краснопірки у р. Рось виявилися більш стабільними та сприятливими для формування дозріваючих ооцитів. В дослідних водоймах виявляли суттєві коливання величини цих показників. Умови водойми № 1 були більш сприятливими: температура води не перевищувала 28°C та падіння вмісту кисню в передранкові години не було критичним (не менш 4,8 мг/дм³). У водоймі № 2 відмічали перевищення температурного оптимуму для цього виду риб, неодноразово температура води була вища за 30°C, а вміст розчиненого кисню падав до 4,2 мг/дм³.

Такі коливання екологічних чинників спричиняють істотний вплив на інтенсивність живлення, фізіологічний стан, активність метаболізму та формування ооцитів у самок краснопірки. Слід відзначити, що кормова база досліджуваних водойм для риб була достатньою та переважала за своєю кількістю р. Рось.

Як показали наші дослідження, в червні найбільший трофічний ріст ооцитів спостерігався у риб з водойми № 1. Маса ооцитів значно перевищувала відповідні показники краснопірки з р. Рось та водойми № 2 (рис. 4.4.1). Якщо в першому випадку безперечно впливала достатньо низька кормова база водойми, то в другому – уповільнення росту ооцитів було пов'язано з дією підвищеної температури води та низької концентрації кисню. Проте в липні між різними групами риб маса ікринок вирівнювалась, дещо вищою вона була у найбільш прогрітій водоймі.

Про значний трофічний ріст ооцитів риб з водойми № 1 у червні місяці також свідчать дані по вмісту білків, глікогену та ліпідів в гонадах (рис. 4.4.2). Зокрема, вміст білків в ооцитах цих риб перевищував у риб з р. Рось та водойми

№ 2 відповідно на 39,1 та 43,0%, ліпідів – на 41,4 та 64,9%, глікогену – у 2,3 та 1,5 разів відповідно. Отже, стан кормової бази та температурний режим водойми № 1 у черні повністю задовольняв процеси оогенезу краснопірки. При меншій кормовій базі водойми (водосховище) трофічний ріст ооцитів в червні уповільнювався. Але найбільш суттєво негативно впливає на формування ооцитів несприятливий, перевищений температурний режим водойми.

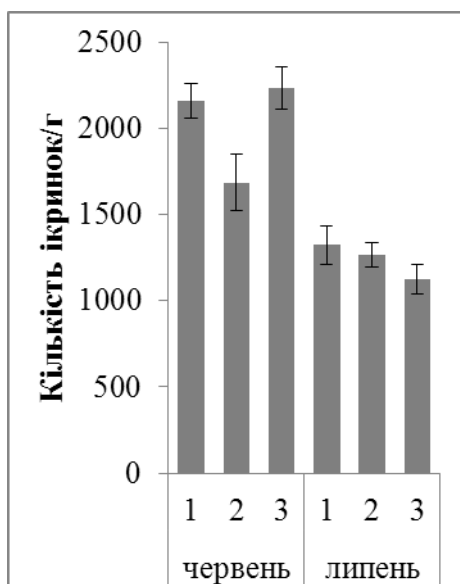


Рис. 4.4.1. Відносна плодючість краснопірки за різних умов існування.

Примітка: 1 – водосховище; 2 – водойма № 1; 3 – водойма № 2.

В липні місяці при завершенні III стадії розвитку ооцитів продовжувалося накопичення запасних речовин в них. Але на цьому етапі риби достатньо адаптувалися до значних температурних перепадів в досліджуваних водоймах, високі температури не заважають процесам накопичення білків, ліпідів та глікогену і в цілому трофічному росту ооцитів. Найбільший вміст запасних речовин відмічено у гонадах краснопірки з водойми № 2. В той же час, як вміст білків у риб з р. Рось та водойми № 1, не відрізнявся між собою, то вміст ліпідів та глікогену був вищим у риб зі ставка № 2 на 5,0 та 60,0% порівняно з краснопіркою з водосховища. В цьому випадку спостерігався позитивний вплив більш якісної кормової бази.

Таким чином, встановлено, що процес розвитку ооцитів краснопірки істотно залежить від екологічних умов існування.

В першу чергу, плодючість риб та рівень накопичення запасних речовин в ооцитах в процесі їх трофічного росту пов'язані з наявністю доступного корму та проточності водойми.

На перших етапах розвитку ооцитів після нересту краснопірки негативні прояви в рості ооцитів та накопиченні в них запасних речовин спостерігалися і при перевищенні температурних умов за норму та при зниженні вмісту розчиненого кисню у воді.

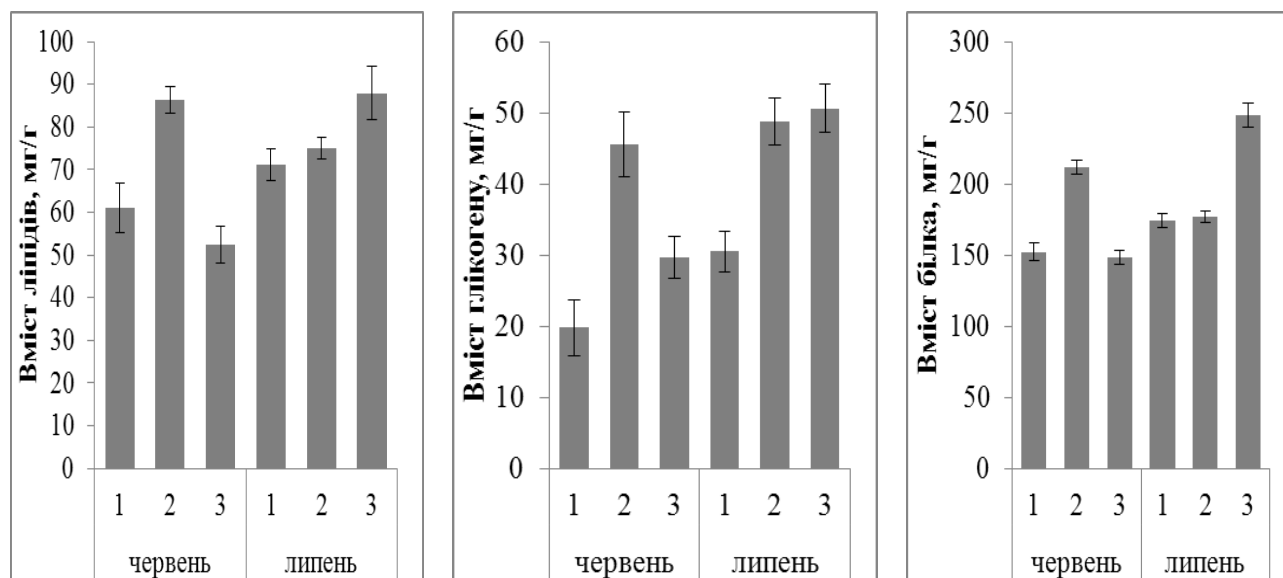


Рис. 4.4.2. Вміст загальних білків, ліпідів та глікогену у гонадах риб за дії екологічних чинників водного середовища.

Примітка: 1 – водосховище; 2 – водойма № 1; 3 – водойма № 2.

Проте, при тривалому існуванні риб за умов значних коливань температури води та вмісту розчиненого кисню, які виходять за межі оптимуму, цей вид добре адаптується і здатний використати переваги, які надають екологічні чинники, підвищити свою плодючість, збільшити накопичення запасних білків, ліпідів та глікогену в ооцитах [231].

РОЗДІЛ 5 ЗМІНА АКТИВНОСТІ ОСНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА ПЛАСТИЧНОГО ОБМІНУ В ЕМБРІОНАХ ТА ПЕРЕДЛИЧИНКАХ РИБ ЗА ДІЇ РІЗНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМИ

У багатьох роботах відзначено вплив на організм риб навіть незначних флуктуацій температури водного середовища [19, 21–24, 27, 31, 37, 42 та ін.] та вмісту розчиненого кисню у воді [90, 93, 97, 98, 99, 208, 209, 211, 212, 213 та ін.]. Зауважимо, що температура завдає істотний вплив на всі рівні структурної організації водяних організмів від організмового до клітинного [4, 194, 214–217].

Існування залежності між рівнем метаболізму і ферментативною активністю дозволяє охарактеризувати статус риб за допомогою молекулярних біомаркерів [195]. До основних молекулярних біомаркерів метаболізму відносять: Na^+/K^+ -АТФ-азу, $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азу і загальну АТФ-азу активність, лактатдегідрогеназу та сукцинатдегідрогеназу [196, 197].

Відомо, що зміни температури чинять істотний вплив на швидкість метаболічних реакцій і загальну інтенсивність обміну [218–220].

Підвищення температури в толерантному діапазоні призводить до посилення інтенсивності обміну, а зниження температури – до його зниження [3]. Між тим, основні обмінні процеси в організмі повинні підтримуватися на певному рівні, котрий може змінюватися лише у доволі вузьких межах, інакше настає порушення гомеостазу, яке викликає загибель організму [198]. Особливо слід підкреслити, що для нормального протікання обмінних процесів важливі як рівень змін температур, так і швидкість їх перемін. Різде зниження температури може призвести до такого сповільнення метаболічних процесів, яке вже не може забезпечити нормальний хід процесів життєдіяльності. Протилежне значне підвищення температури може викликати таке прискорення інтенсивності обмінних процесів, які важко або неможливе забезпечити киснем [208, 209, 211, 212, 213 та ін.]. Тому у пойкилотермних тварин є механізми

контролю інтенсивності обмінних процесів, і, в першу чергу, за рахунок ферментативної регуляції [218–220].

Найбільш помітні зміни ферментативної активності встановлено у риб при ембріональних та ранніх постембріональних стадіях розвитку. Вони спостерігаються як у оптимальних умовах завдяки наявності критичних стадій розвитку ембріонів та личинок риб, так і за дії чинників різної природи [217–220].

Нами досліджена зміна активності ключових ферментів в ембріональних тканинах риб за дії температурного та кисневого режиму водойм, а саме ті, які характеризують енергетичний та білковий обмін.

5.1. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ембріонах та передличинках риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.

При температурній адаптації зміна функціонування клітинних мембран може відігравати важливу роль [102, 112, 122]. Роль Na^+/K^+ -АТФ-аз при цьому може бути ключовою не тільки у підтримці структурної цілісності мембран, але й в забезпеченні їх функціонального статусу, перш за все, йонного обміну [142]. Цей фермент бере участь в процесах осмотичної і йонної регуляції, забезпечує активний транспорт. Він вбудований в зовнішню плазматичну мембрану клітини, забезпечує перенесення йонів Na^+ і K^+ проти їх концентраційного градієнта. Крім того Na^+/K^+ -АТФ-аза може регулювати перенесення різних метаболітів, в тому числі цукрів і амінокислот через клітинну мембрану [149, 150].

Відомо, що Na^+/K^+ -АТФ-аза мембран клітин одна з перших забезпечує формування первинної реакції на дію чинників та запускає механізми формування довготривалої адаптації [149, 150, 151].

Білий товстолобик. Як показали результати власних досліджень, на ембріональних стадіях розвитку білого товстолобика активність цього ферменту значно менша, ніж на личинкових. Це пов'язано з більш активним

транспортом речовин із зовнішнього середовища в організм личинок, оболонки ікринки перешкоджають цьому процесу.

Згідно результатів досліджень встановлено, що активність Na^+/K^+ -АТФ-ази в ікрі білого товстолобика на стадії закінчення гастрюляції поступово зростає по мірі підвищення температури оточуючого середовища (рис. 5.1.1). Так, за температури води 30,4–30,6°C вона вища в 1,8–3,0 рази порівняно з температурою 22,0–23,4°C. Відзначені температури води відмічалися о 19 год., вночі спостерігалось її падіння на 1,5–3,0°C. Це вказує на посилення йонного обміну в ікрі товстолобика за дії температурного чинника. Цей вид є теплолюбним, для якого оптимальними для ембріонального розвитку ікри вважається температура 24,0–25,0°C. За цієї температури спостерігається середня активність АТФ-ази (9,6–11,2 мкг Р/год.×мг білка). Зміни активності ферменту від оптимуму можна вважати проявом адаптивних реакцій організму до температури води вже на стадії гастрюляції, яка є критичним періодом у розвитку риб.

Активність АТФ-ази під час раннього ембріонального розвитку білого товстолобика всередині оболонки досить адекватно відображає стан зовнішнього середовища, його сприятливість для ембріонів. За погіршення температурних умов та зниженням при цьому концентрації розчиненого кисню підвищується активність АТФ-ази, тобто відбувається посилений обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем ікринки, що ми спостерігали за температури 30,4 та 30,6°C (рис. 5.1.2), де активність ферменту була найвищою. Крім того, при цьому відбувався прискорений розвиток ембріонів та спостерігався значний відсоток аномалій. Це могло стати наслідком порушень у диференціюванні зародкових листків на стадії гастрюляції. На наш погляд, найбільш оптимальною для нормального ембріогенезу білого товстолобика була температура в межах 25–28°C. Зі збільшенням температури відбуваються суттєві перебудови у метаболічних процесах, що відображається у зміні ферментативної активності, зокрема АТФ-ази.

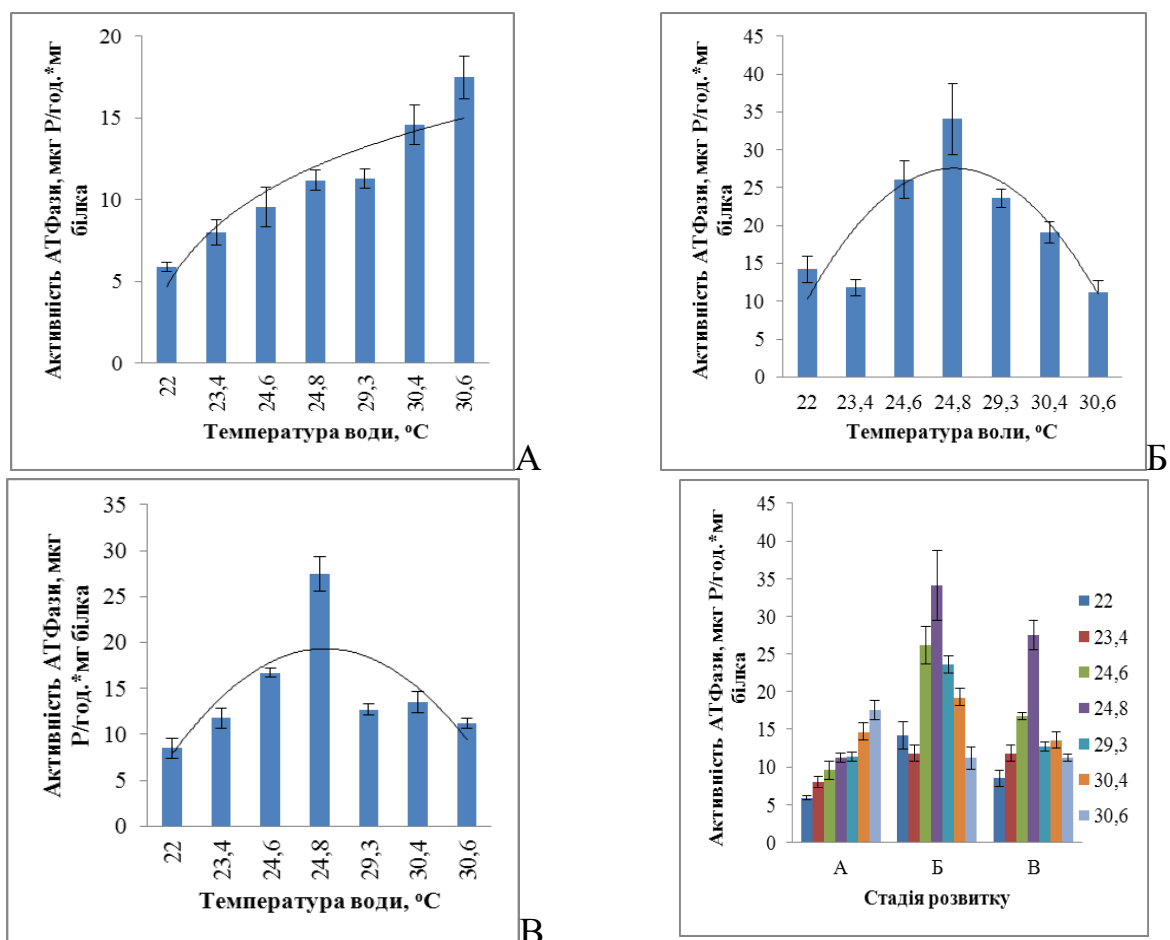


Рис. 5.1.1. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ікрі білого товстолобика під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – стадія кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – рухливий ембріон.

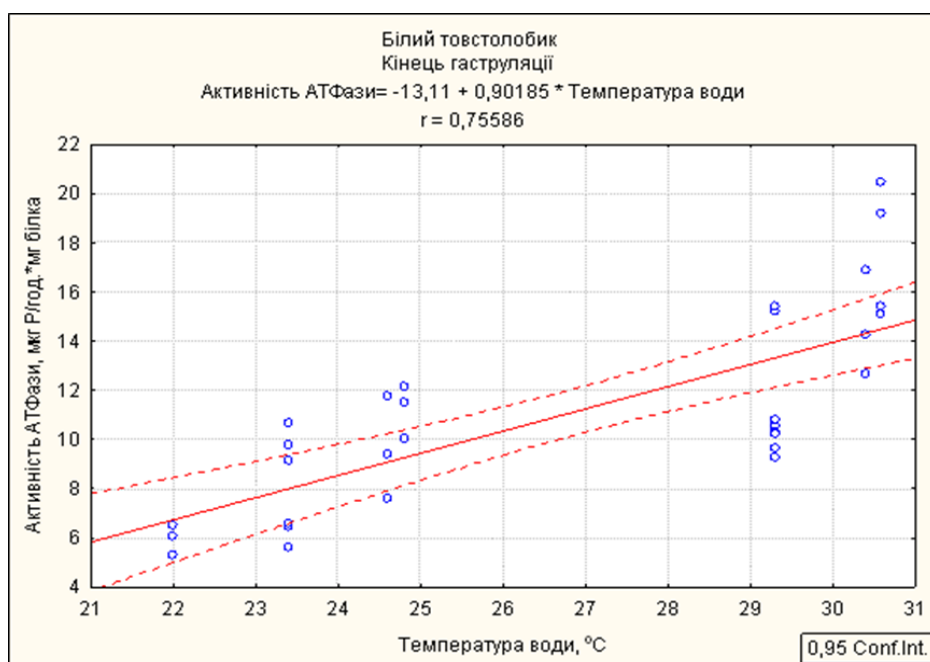


Рис. 5.1.2. Кореляційна залежність між температурою води та активністю АТФ-ази в ікрі білого товстолобика на стадії кінець гастрюляції.

В досліджуваних водоймах у вранішні години відбувалося значне зниження вмісту розчиненого кисню. Це також сприяє посиленню йонного обміну між зовнішнім та внутрішнім середовищем, інтенсивному використанню енергоресурсів, у тому числі й АТФ, що є проявом адаптивних реакцій до погіршення умов.

На стадії очних бокалів в ікрі товстолобика відбувалося істотне підвищення активності досліджуваного ферменту (рис. 5.1.1) порівняно з попередньою стадією, що вказує на посилення контакту ембріона з його зовнішнім середовищем на цьому етапі розвитку, зокрема через необхідність додаткового надходження кисню. Крім того, зростання активності АТФ-ази, можливо, викликано необхідністю посилення йонного обміну для забезпечення тканинного гомеостазу ембріонів.

З рис. 5.1.1 видно, що найбільш оптимальною для ембріонального розвитку риб на стадії очних бокалів була температура на рівні 25,0°C. За інших досліджуваних температур спостерігалось зниження активності цього ферменту, що, вочевидь, пов'язано з послабленням у цих умовах йонного обміну у мембранах ікри.

Як і на попередніх стадіях розвитку, на стадії рухливого ембріона найбільш сприятливим температурний режим знаходився на рівні 25,0°C. З підвищенням температури води з 22,0°C до 24,8°C активність АТФ-ази зростала у 3,2 рази. При подальшому її рості до 29,3–30,6°C відбувалось зниження активності Na^+/K^+ -АТФ-ази, що свідчить про відмінні шляхи йонного обміну за таких умов та залучення інших ферментів у обмінних процесах. Спостерігалася адаптивна перебудова метаболічних процесів в організмі за перевищенням оптимальної температури для ембріонів білого товстолобика.

На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що стабільні температурні та кисневі умови більш сприятливі для ембріонів білого товстолобика, але і при коливанні цих умов відбувається нормальний розвиток зародків. Лише при перевищенні температури води вище за 26°C та зниженні

вмісту кисню менш за 5,0 мг/дм³ посилюються енерговитрати, що призводить до розвитку аномальних ембріонів та зниженню їх життєздатності [236, 242].

Білий амур. Аналогічні дослідження проведені на ікрі білого амура. Згідно отриманих результатів на стадії гастрюляції у цього виду виявлено максимальну активність АТФ-ази за температури 25,6°C (41,1 мкг Р/год.×мг білка) (рис. 5.1.3). Порівняно з мінімальною температурою води (19,6°C) та максимальною (29,2°C) активність цього ферменту була вищою у 3,5 та 2,3 рази відповідно.

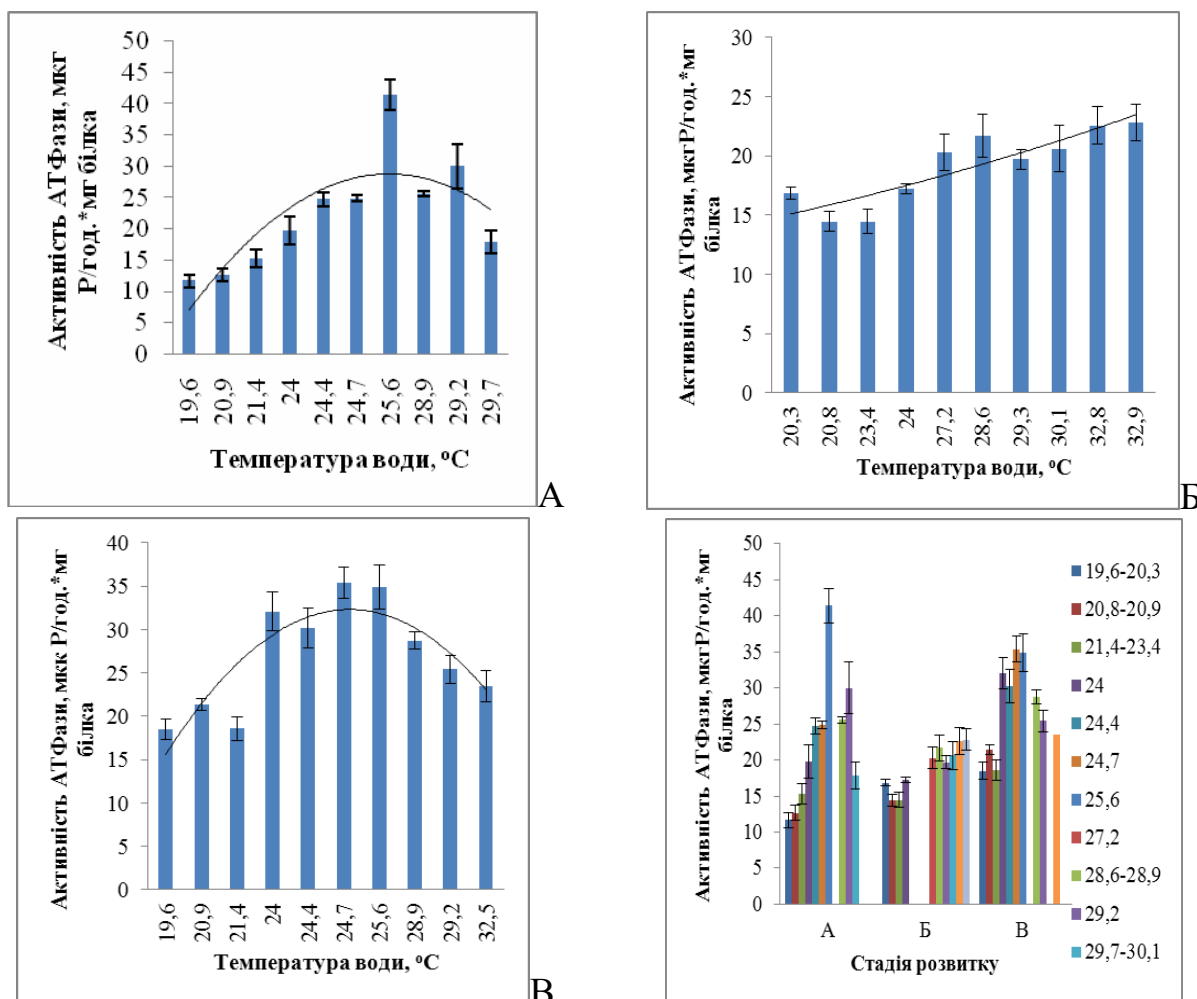


Рис. 5.1.3. Зміна активності Na⁺/K⁺-АТФ-ази в ікрі білого амура під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – стадія кінець гастрюляції, Б – очні бокалі, В – рухливий ембріон.

На відміну від ікри білого товстолобика, у білого амура на стадії очних бокалів проходить зниження активності АТФ-ази та відповідно і йонного обміну на мембранах клітин порівняно із стадією гастрюляції. Лише за

температур від 20,3 до 24,0°C відбувалося зростання активності ферменту на стадіях раннього органогенезу порівняно з гастрюляцією.

Було встановлено пряму кореляційну залежність між температурою води та активністю АТФ-ази в ікрі білого амура на стадії очних бокалів гастрюляції (рис. 5.1.4). Зі збільшенням температури води відбувається суттєве зростання активності АТФ-ази.

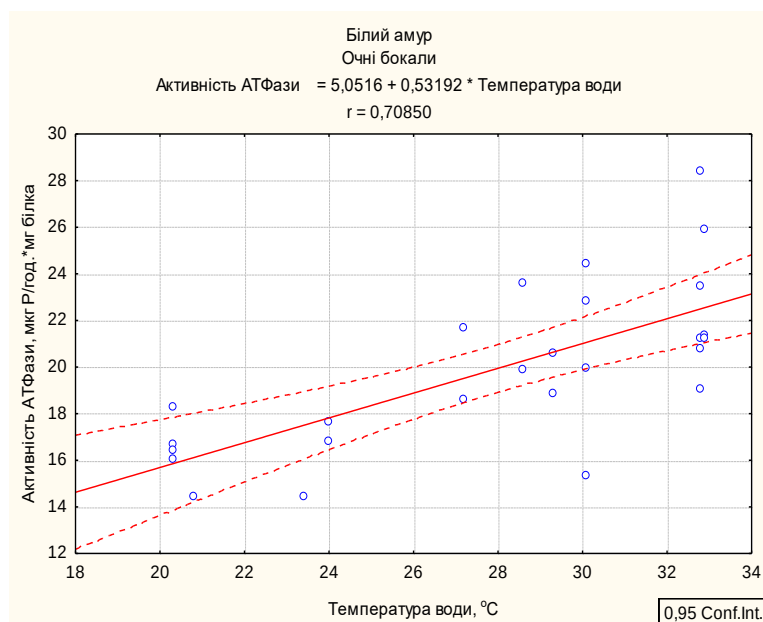


Рис. 5.1.4. Кореляційна залежність між температурою води та активністю АТФ-ази в ікрі білого амура на стадії очні бокали.

На стадії рухливого ембріона активність ферменту знову зростала від 18,5 до 35,4 мкг Р/год.×мг білка залежно від температури оточуючого середовища (рис. 5.1.3). Це вказує про посилення йонного обміну на передодні вилуплення ембріонів з оболонки ікринки. За активністю досліджуваного ферменту найбільш оптимальними для розвитку ембріонів ми вважаємо температуру 25,0°C, як і для білого товстолобика. Саме за цієї температури відбувалося максимальне зростання активності АТФ-ази порівняно з іншими температурними режимами.

Важливо відзначити, що при температурі 25,0°C створилися задовільні кисневі умови (вище за 5,0 мг О/дм³), чого не спостерігалось при перевищенні температурного оптимуму. При досить високому температурному режимі, вище за 28,0°C, найчастіше був помічений аномальний розвиток ембріонів.

Під час ембріонального розвитку передличинок температура води в дослідних водоймах дещо знизилась та знаходилася в діапазоні 21,0–25,5°C. На першу добу розвитку вільних ембріонів білого амура загальна активність Na^+/K^+ -АТФ-ази знаходилася на доволі низькому рівні 2,38 мкг Р/год.×мг білка при температурах 22,5–23,5°C (рис. 5.1.5).

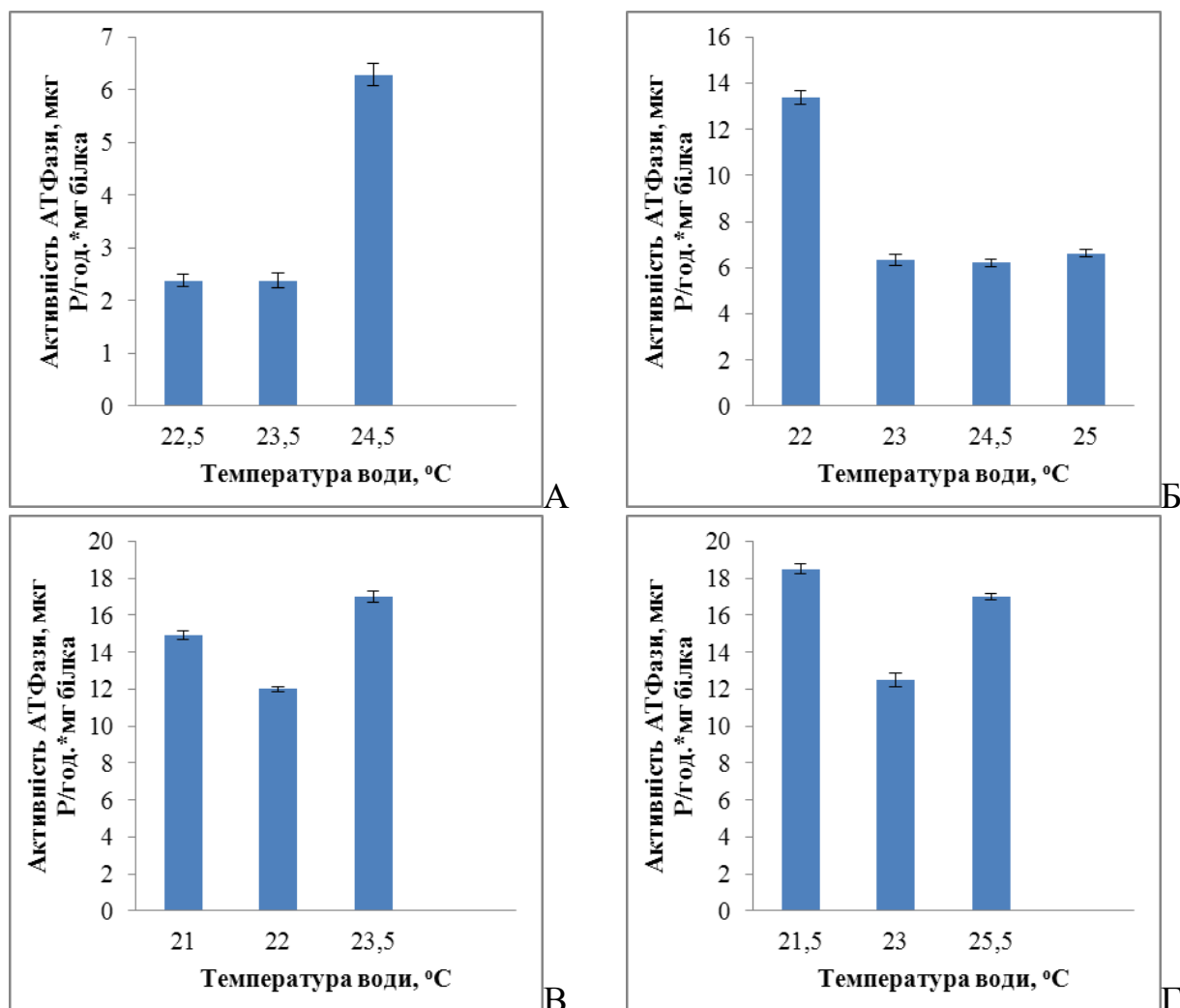


Рис. 5.1.5. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в передличинках білого амура за впливу температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку.

Проте при підвищенні температури до 24,5°C активність ферменту значно зросла до 6,29 мкг Р/год.×мг білка, що на 62% більше. На такому ж рівні його активність зберігалася й на 2 добу розвитку та коливалася в межах 6,21–6,63 мкг Р/год.×мг білка при температурі 23–25°C. Значне зростання активності ферменту було зафіксовано при 22°C та становило 13,38 мкг Р/год.×мг білка,

що на 53,5% більше порівняно з мінімальним значенням – 6,21 мкг Р/год.×мг білка при 24,5°C.

Вже на третю добу розвитку передличинок активність Na^+/K^+ -АТФ-ази істотно зростала порівняно з 1 та 2 добою та становила 12–17 мкг Р/год.×мг білка. Для коливань величини цього показника в ембріональних тканинах характерні хвилеподібні зміни (рис. 5.1.5). Максимальну величину було зафіксовано при 23,5°C, яка становила 17 мкг Р/год.×мг білка, а мінімальна 12 мкг Р/год.×мг білка при 22°C, що на 29,4% менше. Для четвертої доби розвитку личинок також була характерна хвилеподібна зміна активності ферменту залежно від температури. Максимальну активність зафіксовано при 21,5°C, яка становила 18,5 мкг Р/год.×мг білка, а мінімальну при 23°C – 12,5 мкг Р/год.×мг білка, що на 32,4% менше.

Аналізуючи дані власних досліджень зі зміни активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в передличинках білого амура, можна дійти наступного висновку: діапазон температур 21–25,5°C є сприятливим для розвитку личинок білого амура; за весь період їх розвитку активність ферменту була значною, що вказує на високу інтенсивність обміну між організмом та оточуючим середовищем [235, 236, 246].

Короп. За результатами досліджень, проведеними на ікрі коропа, було встановлено, що на стадії очних бокалів активність ферменту була вищою при температурі 22,3°C в 4,2 та 7,2 рази, ніж при 20,0 та 21,7°C (рис. 5.1.6). У свою чергу, при подальшому зростанні температури до 25,4°C активність АТФ-ази знижується в 2,6 рази, а до 27,8°C – в 17,6 рази. Це вказує на суттєву ізоляцію ембріонів від несприятливого зовнішнього середовища шляхом зниження йонного обміну з ним та переходом на анаеробний обмін в тканинах ембріонів. Особливо важливим є той факт, що за цих температурних умов знижується вміст розчиненого у воді кисню до 2,5–2,8 мг/дм³, а розвиток ембріонів дещо уповільнювався.

На стадії пігментації очей у коропа нами відмічено найвищу активність Na^+/K^+ -АТФ-ази за температури 22,0–24,0°C, яка була на 22,8–59,0% вищою,

ніж за 25,0–28,0°C. Саме 22,0–24,0°C є найбільш оптимальним температурним режимом для ембріонального розвитку цього виду у природних водоймах. З підвищенням температури на цій стадії відбувається зниження активності ферменту, що зумовлено компенсаторними реакціями в ембріонах на зростаючий вплив температурного чинника та зниження вмісту розчиненого у воді кисню.

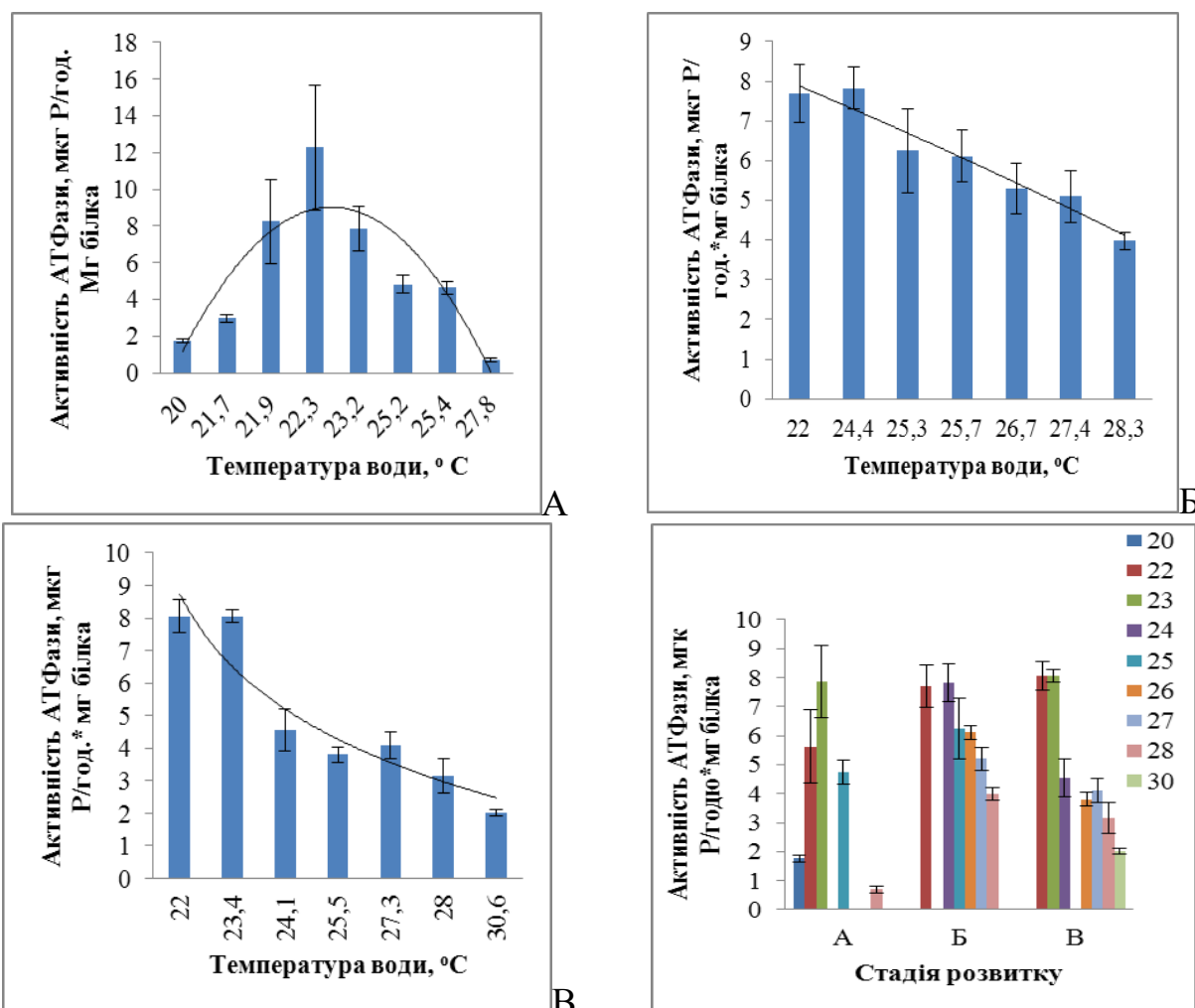


Рис. 5.1.6. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФази в ембріонах коропа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – стадія очні бокали, Б – пігментація очей, В – рухливий ембріон.

Для ікри коропа на стадії рухливого ембріона встановлено аналогічну тенденцію змін активності АТФ-ази, як і на стадії пігментації очей. Зокрема, з підвищенням температури водного середовища зменшувалась активність Na^+/K^+ -АТФ-ази, що зумовлено послабленням окисно-відновних та посиленням анаеробних процесів за низького вмісту кисню у воді. Особливо відчутне зниження активності ферменту у ікрі встановлено за температури води 30°C.

За напрямками змін активності Na^+/K^+ -АТФ-ази та її величинами протягом ембріогенезу можна стверджувати чи екологічні умови є оптимальними або критичними для проходження ембріогенезу риб у природних водоймах. Найбільш оптимальними температурами для розвитку коропа є температура 22–24°C. На відміну від рослиноїдних риб у коропа протягом ембріонального розвитку рівень оптимальної температури для розвитку зародків не змінюється залежно від стадії розвитку. У цьому проявляється міжвидова різниця досліджуваних риб.

Встановлено, що розвиток ембріонів коропа проходить як за нормальних кисневих та температурних умов, так і під час їх коливання. При цьому змінюється швидкість росту та розвитку зародків, яке супроводжується порушеннями поділу клітин ембріонів та виражається у зменшенні життєздатності нащадків.

Дослідження активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в личинках коропа протягом перших чотирьох діб після викльову показали хвилеподібний характер зміни величини цього показника залежно від коливань температури оточуючого середовища. Характерною особливістю для коропа є те, що в усі доби досліджень активність ферменту значно збільшується при температурі 22°C, а інколи досягає максимуму, потім при зростанні температури значно падає й досягає мінімуму при 26°C. Далі з наступним збільшенням температури активність знову зростає, що відбувається через розвиток адаптивних реакцій до несприятливих чинників.

Зокрема в першу добу розвитку личинок максимальна активність була зафіксована при 22°C та становила 66,29 мкг Р/год.×мг білка (рис. 5.1.7). Далі при температурі 26,5°C суттєво знизилася та досягнула свого мінімуму – 25,1 мкг Р/год.×мг білка, що є на 62% менше [235, 236, 237, 241, 246].

Окунь. Аналогічні дослідження були проведені на ембріонах та передличинках окуня, як типового аборигена наших водойм. На ранніх стадіях розвитку (кінець гастрюляції) максимальна активність Na^+/K^+ -АТФ-ази була зафіксована при температурі 10,2°C та становила – 3,11 мкг Р/год.×мг білка (рис.

5.1.8). Далі з наступним підвищенням температури оточуючого середовища всього на 0,2°C активність ферменту знизилася на 47%, але вже при температурі 11,2°C вона знову зросла до 2,9 мкг Р/год.×мг білка, що на 6,7% менше порівняно з максимумом.

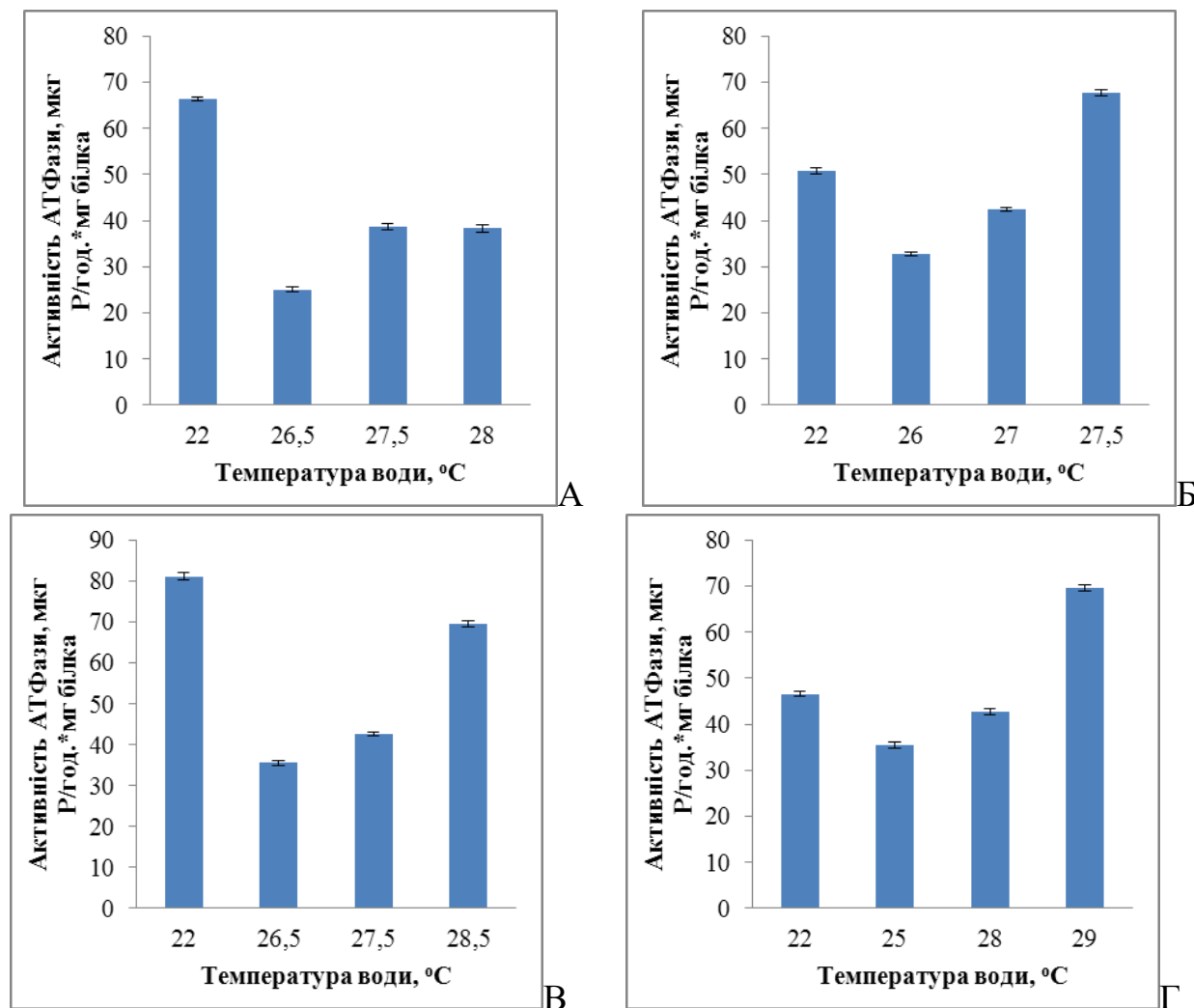


Рис. 5.1.7. Зміна активності Na⁺/K⁺-АТФ-ази в личинках коропа під впливом температури води, M±m, n=6.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку.

На наступній стадії розвитку – очні бокали зберігається подібна тенденція, яку ми бачили на попередньому етапі розвитку: з підвищенням температури води активність ферменту зменшується. Максимальна активність Na⁺/K⁺-АТФ-ази на стадії очні бокали була відмічена при мінімальній температурі води 8,7°C та становила 5,00 мкг Р/год.×мг білка. Вже при зменшенні температури водного середовища всього на 0,1°C спостерігалася тенденція до зниження активності ферменту на 7,2%, а рівень його активності становив 4,64 мкг Р/год.×мг білка.

Мінімальна активність була зафіксована при температурі 9,1°C – 4,23 мкг Р/год.×мг білка, що на 15,4% менше порівняно з максимумом.

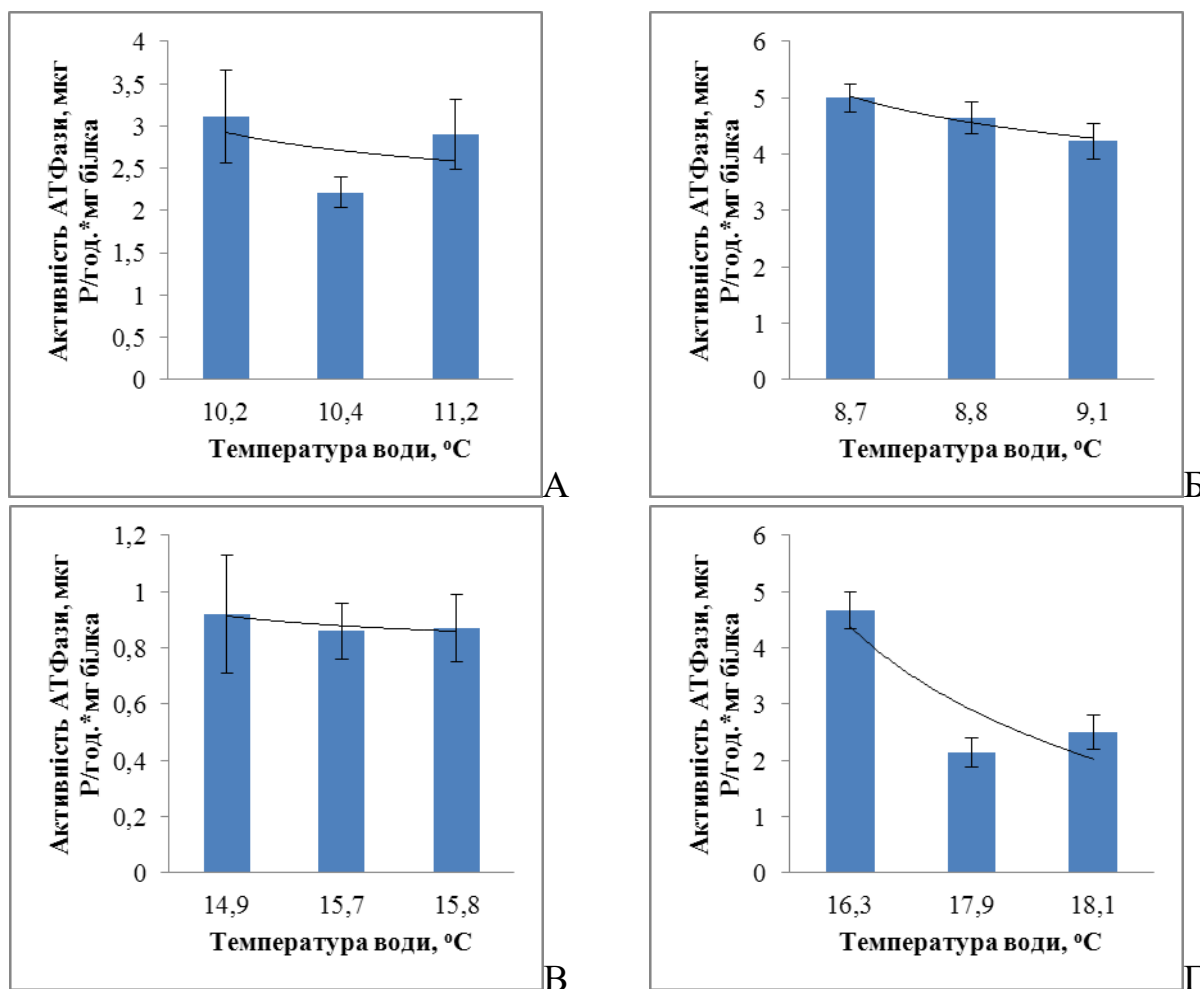


Рис. 5.1.8. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ікрі та передличинках окуня, під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки.

Також подібна закономірність, яка описана на двох попередніх стадіях, характерна й для стадії пігментація очей, але сумарна активність на цій стадії розвитку була істотно нижчою. На рис. 5.1.8. чітко видно, що з підвищенням температури води активність ферменту падає. Максимальну активність було відмічено при 14,9°C, яка становила 0,92 мкг Р/год.×мг білка, а мінімум 0,86 мкг Р/год.×мг білка був при 15,7°C, що на 6,5% менше порівняно з максимумом. За активністю Na^+/K^+ -АТФ-ази для ембріонів окуня можна судити, що найбільш сприятливими температурами для ембріонального розвитку є нижні її величини, зокрема, для стадії пігментація очей це 14,9°C.

Після вилуплення на стадії передличинки помітно збільшилась температура води у досліджуваних водоймах до 16,3–18,1°C, що також суттєво вплинуло на активність ферменту у ембріональних тканинах. Також хотілось відмітити те, що протягом ембріонального та раннього постембріонального розвитку зберігалася одна й та сама зворотна залежність між температурою води та активністю Na^+/K^+ -АТФ-ази. Оскільки окунь це весняно нерестуючий вид риб і ембріональний розвиток відбувається при відносно низьких температурах, то протягом всіх досліджень ми не спостерігали жодних проблем з кисневим режимом, його концентрація була в межах 5,0–11,6 мг/дм³.

Максимальна активність ферменту на стадії передличинок була відмічена при температурі 16,3°C та становила 4,67 мкг Р/год.×мг білка, а при досягненні температури оточуючого середовища 18,1°C вона знизилася на 46,4% порівняно з максимумом.

Плітка. Оскільки плітка більш теплолюбивий вид риб порівняно з окунем, для неї характерні значно вищі температури води під час ембріонального розвитку, які можуть коливатися в досить ширшому діапазоні 14–21°C.

На стадії кінець гастрюляції (рис. 5.1.9) відмічена закономірність, що з підвищенням температури активність Na^+/K^+ -АТФ-ази значно зростала. Мінімальна її активність була зафіксована при температурі 16,9°C та становила 2,84 мкг Р/год.×мг білка. Далі з підвищенням температури води до 18°C вона мала тенденцію до зростання на 5,3%. Вже при 18,5°C активність ферменту досягла максимальної (3,46 мкг Р/год.×мг білка) величини, що на 17,9% більше порівняно з мінімумом. Це свідчить про те, що ембріони плітки краще себе почувають при вищих температурах з досліджуваного діапазону, але й при нижніх величинах розвиток йде в межах норми.

Під час настання наступної стадії розвитку – очні бокали, температура в досліджуваних водоймах дещо (на 1,5–2,0°C) знизилась. Проте, не дивлячись на це, закономірність, яка була характерна для попередньої стадії розвитку, в цьому випадку зберігається. Мінімальна активність Na^+/K^+ -АТФ-ази була при 15°C та

становила 1,59 мкг Р/год.×мг білка. При наступному збільшенні температури води на 1,2°C вона зросла на 37,1%. Максимальну активність ферменту було відмічено при 16,9°C, а саме 3,18 мкг Р/год.×мг білка, що на 50% більше порівняно з мінімумом.

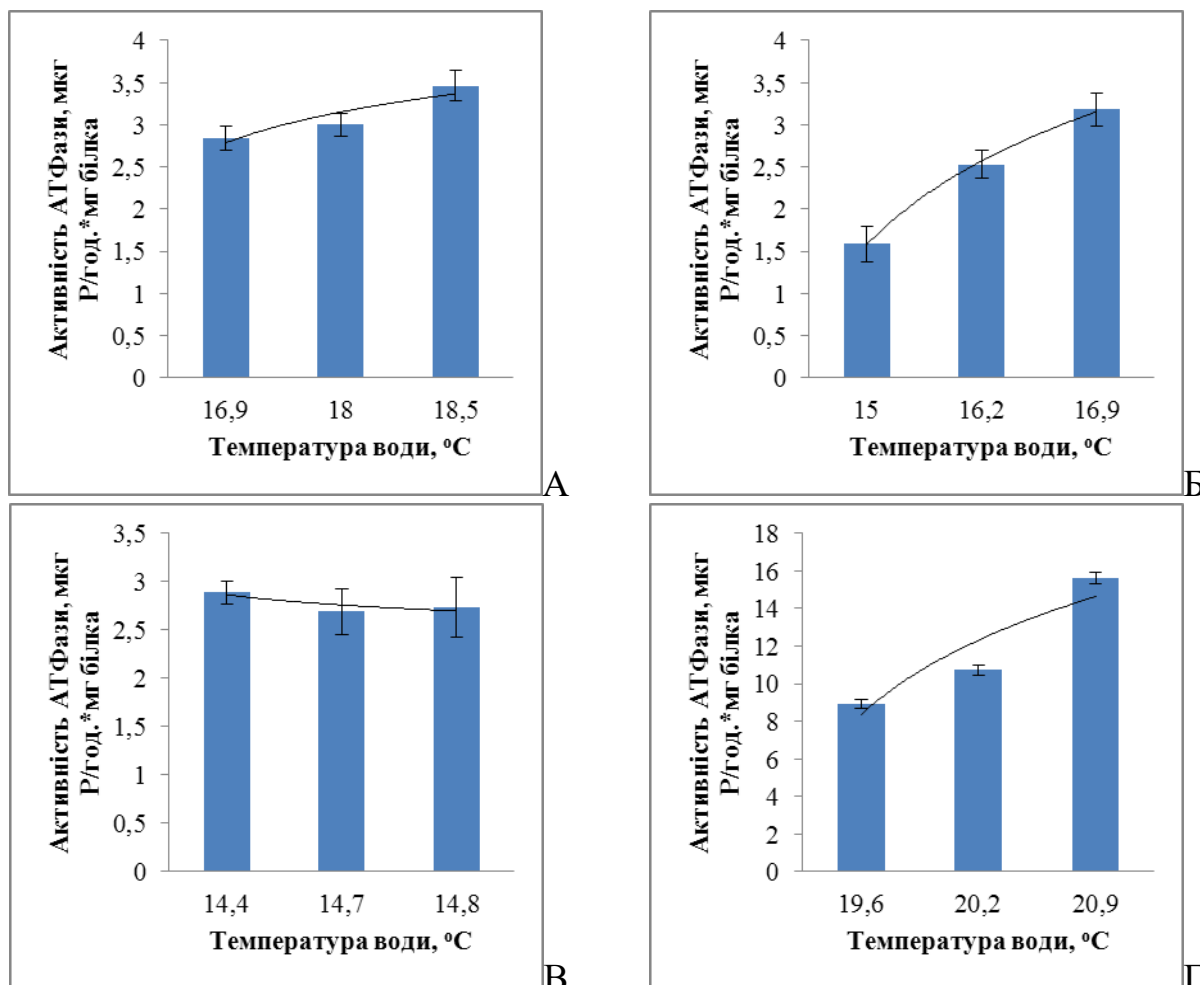


Рис. 5.1.9. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ікрі та передличинках плітки за впливу температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки.

Стадія розвитку плітки – пігментація очей, також проходила при загальному зниженні температури води до 14,4–14,8°C, що, в свою чергу, вплинуло на активність ферменту (рис. 5.1.9.). Чітко видно за відсутності відмінностей у температурі води у різних водоймах активність АТФ-ази в ембріонах знаходилась на майже одному рівні. Мінімальна активність Na^+/K^+ -АТФ-ази при температурі 14,7°C була меншою, ніж при температурі 14,4°C всього на 6,9%, але та ці відмінності були не вірогідними.

Під час вилуплення передличинок з оболонки суттєво підвищилась температура у водоймах до 19,6–20,9°C, що, як і втрата оболонки та перивітелінової рідини, значно вплинуло на збільшення активності ферменту. Також для цієї стадії розвитку характерним є збереження подібної закономірності змін активності АТФ-ази залежно від температури водного середовища, яку ми спостерігали на попередніх етапах ембріонального розвитку плітки. Мінімальну її активність було зафіксоване при 19,6°C, яка становила 8,94 мкг Р/год.×мг білка, а максимальну – при 20,9°C – 15,63 мкг Р/год.×мг білка, що на 42,8% більше порівняно з мінімумом.

На підставі власних досліджень активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ембріонах та передличинках плітки можна відмітити, що вона істотно зростає з підвищенням температури води. Це може свідчити про добру пристосованість плітки до температурного режиму водойм як при кліматичних нормах, так і дещо переважаючих цю норму. Найкращою температурою для ембріонального розвитку плітки є 16–17°C, а на стадії передличинки її оптимум зростав до 20–21°C [249].

Йорж. Були проведені дослідження зміни активності Na^+/K^+ -АТФ-ази залежно від температури оточуючого середовища на ембріонах та передличинках йоржа. Результати власних досліджень показали, що на ранніх етапах розвитку ембріонів – кінець гастрюляції відмічено чітку тенденцію до збільшення активності ферменту при підвищенні температури, хоч і не було різких стрибків (рис. 5.1.10). Мінімальну активність було зафіксовано при 13,6°C, яка становила 4,54 мкг Р/год.×мг білка, а максимум спостерігали при 14,5°C – 5,02 мкг Р/год.×мг білка, що на 9,6% більше порівняно з мінімумом. Це свідчить про те, що для ембріонального розвитку йоржа кращими є вищі температури з дослідженого діапазону.

При переході на наступну стадію розвитку – очні бокали відбулося значне зростання температури води в досліджуваних водоймах до 16,3–18,8°C, на що й відреагувала Na^+/K^+ -АТФ-аза зміною своєї активності (рис. 5.1.10). В цей час спостерігали різке зменшення активності ферменту при значному підвищенні

температури оточуючого середовища. Максимальна її активність була зафіксована при 16,3°C та становила 1,52 мкг Р/год.×мг білка, а мінімальне - при 18,8°C – 0,88 мкг Р/год.×мг білка, що на 42,0% менше порівняно з максимумом. Це свідчить про те, що для ембріонів йоржа існує вузький коридор оптимальної температури та при виході за його межі організм намагається адаптуватися до несприятливого середовища, зменшуючи активність Na^+/K^+ -АТФ-ази.

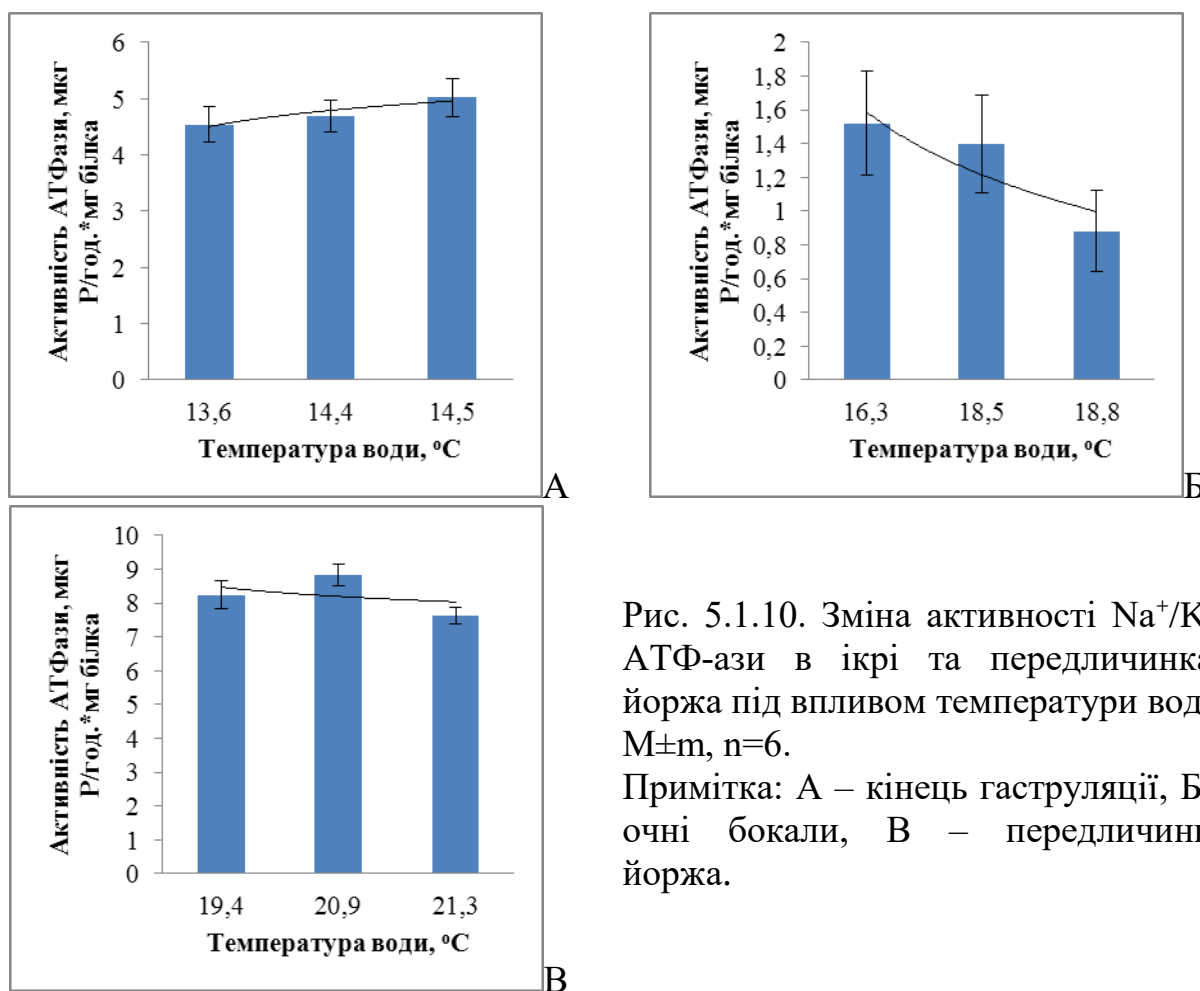


Рис. 5.1.10. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в ікрі та передличинках йоржа під впливом температури води. $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – передличинки йоржа.

Під час проходження стадії передличинок відбувалося підвищення температури у водоймах. Проте, на цьому етапі розвитку організм йоржа почував себе комфортніше, про що свідчить стабільно висока активність Na^+/K^+ -АТФ-ази при всіх досліджуваних температурах води від 19,4 до 21,3°C. До температури 20,9°C спостерігався ріст активності ферменту і досягав свого максимуму – 8,82 мкг Р/год.×мг білка. Далі вона дещо падала і становила при 21,3°C – 7,64 мкг Р/год.×мг білка, що на 13,3% менше порівняно з максимумом.

Аналізуючи вищенаведені дані власних досліджень, можна дійти наступних висновків: для ембріонального розвитку йоржа в середині оболонки

оптимальна температура води 15–16°C, проте вже на стадії передличинок оптимум її значно зростає і становить 19–20,9°C.

5.2. Зміна активності сукцинатдегідрогенази в ембріонах та передличинках риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.

Найважливішим чинником, що визначає нормальне функціонування організму і його здатність адаптуватися до постійно змінних умов навколишнього середовища, є рівень енергетичного обміну. В процесі розвитку організму енергія у вигляді АТФ, перш за все, необхідна для синтезу структурних речовин, функціональних молекул і запасних речовин [119, 120]. Основоположним процесом генерування енергії АТФ у вищих тварин є аеробний шлях. Саме сукцинатдегідрогеназа каталізує в циклі Кребса зворотне окиснення янтарної кислоти до фумарової. Активність дегідрогеназ може слугувати для діагностики стану організму при захворюваннях або в несприятливих умовах [156, 157].

Білий товстолобик. Рівень активності СДГ свідчить про ступінь необхідного енергозабезпечення метаболічних процесів залежно від стадії розвитку ікри та екологічних умов. Якщо в водному середовищі при стабільних температурних та кисневих режимах активність цього ферменту протягом всього ембріонального розвитку білого товстолобика залишалася стабільною, то за дії коливального температурного режиму, який супроводжувався зміною концентрації розчиненого кисню, між величиною цього показника у ембріонів з різних водойм існують суттєві розбіжності.

Як показали результати власних досліджень, активність ферменту чітко реагує на зміну умов середовища. Зокрема, на стадії кінець гастрюляції видно, що найвища активність ферменту 5,23–5,09 нмоль/мг білка×хв. спостерігалася при температурі зовнішнього середовища 23,5–24,5°C (рис. 5.2.1). Це вказує на те, що ця температура в поєднанні з оптимальним рівнем насичення води киснем (6,5 мг/дм³) є найкращою для цієї ембріональної стадії розвитку білого

товстолобика. Зі збільшенням температури оточуючого середовища активність ферменту починає різко знижуватися. Так, при 33°C активність СДГ була в 2,6 рази меншою (1,98 нмоль/мг білка×хв.), ніж при температурі 23,5°C, що може свідчити про погіршення умов середовища та переходу енергозабезпечення ембріона на анаеробним шляхом.

На стадії очних бокалів в ембріонах білого товстолобика також відмічено подібну картину змін активності ферменту, як і на стадії кінець гастрюляції. Найвища активність була відмічена при температурі 25°C (6,36 нмоль/мг білка×хв.). При зменшенні або збільшенні температури води активність СДГ різко падає в 3,5 разів при температурі (24°C), 5,6 разів при температурі (29°C) та 2,6 разів при температурі (33°C). На стадії рухливого ембріона при значному (вищому за кліматичну норму) нагріві води в денні години відбувалося значне зниження активності СДГ – риби переходили на інші шляхи енергозабезпечення свого ембріонального розвитку.

Аналізуючи активність цього ферменту протягом всього ембріогенезу білого товстолобика, можна дійти висновку, що температура оточуючого середовища 24–25°C є найкращою для його проходження.

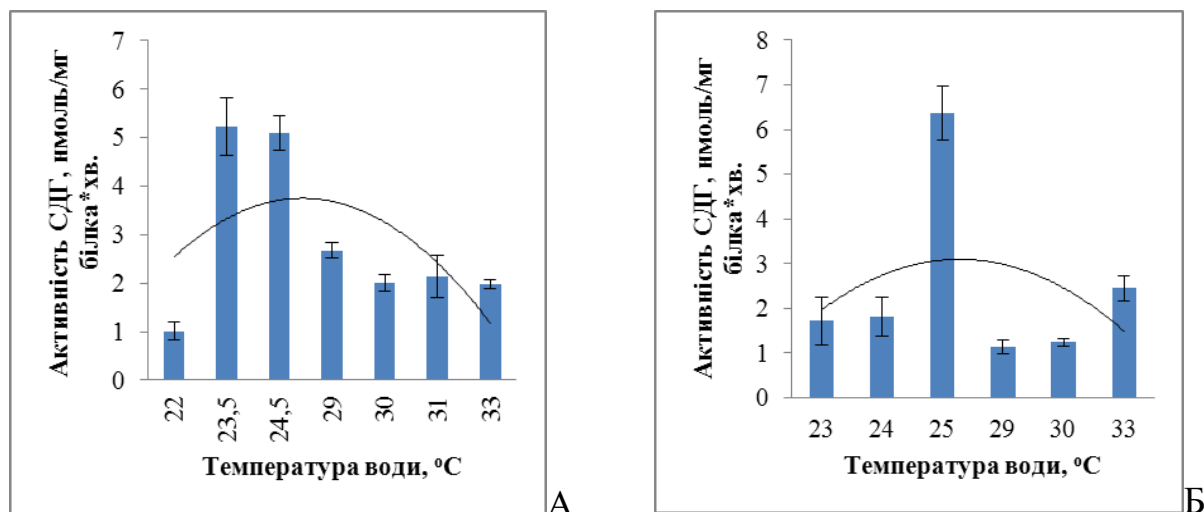


Рис. 5.2.1. Зміна активності сукцинатдегідрогенази в ікрі білого товстолобика, під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали.

Білий амур. Під час аналізу даних власних досліджень для білого амура було помічено значно вищу активність СДГ, ніж у білого товстолобика. Так, при температурі води 33°C активність ферменту у білого амура була в 1,5 рази

вищою, ніж у білого товстолобика, не дивлячись на те, що саме при цій температурі спостерігались мінімальні його рівні для обох видів (рис. 5.2.2).

На стадії кінець гастрюляції в ембріонах активність ферменту при збільшенні температури води поступово знижувалася, хоч і залишалася на доволі високому рівні. При 19,2°C активність СДГ була на рівні 7,93 нмоль/мг білка×хв., а при 29,2°C знизилась до 5,86 нмоль/мг білка×хв на 74%.

На стадії очних бокалів спостерігалася така ж залежність, яка була на попередній стадії. З підвищенням температури активність ферменту падає. Найвища активність встановлена за температури 20,5°C (11,72 нмоль/мг білка×хв.), а найменша – при 32,9°C (в 3 рази нижче).

Аналізуючи дані активності СДГ протягом всього ембріогенезу, можна відмітити високий рівень активності ферменту в ембріонах білого амура. Найвищі його величини були при низьких температурах. Це може свідчити про те, що організмом в температурних умовах нижче оптимуму витрачається більша кількість енергії. Відомо, що як збільшення, так і зменшення температури за межі оптимуму є потужними стрес-чинником, який потребує значного енергозабезпечення процесів адаптації. Оскільки, в досліджуваних водоймах за цих умов рівень насичення води киснем був високим, то і всі процеси пристосування протікали як в аеробному руслі, так і анаеробному.

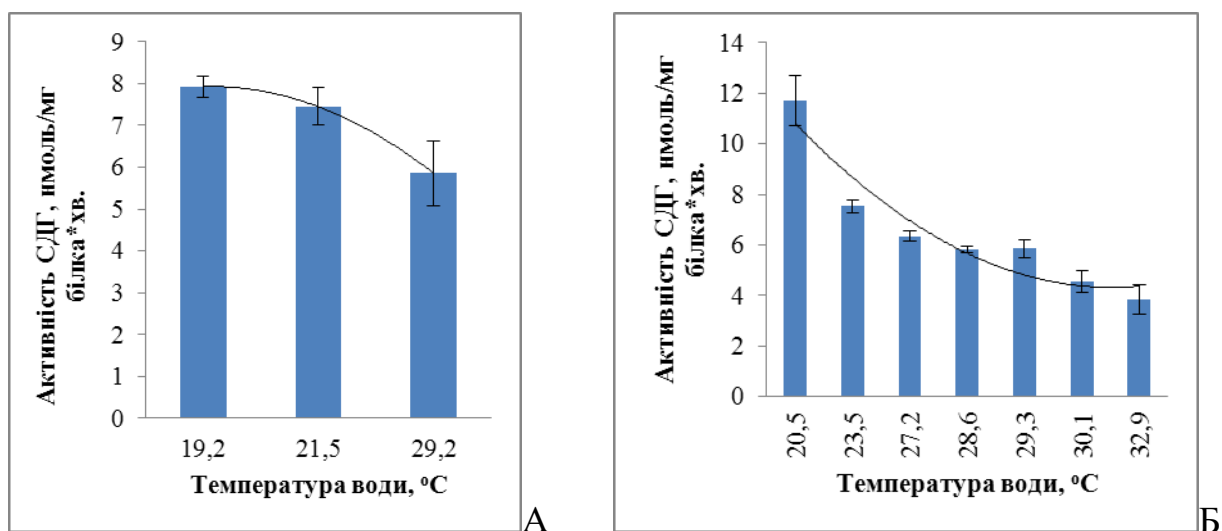


Рис. 5.2.2. Зміна активності СДГ в ікрі білого амура під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали.

Під час проведення досліджень на передличинках суттєво знижувалась температура у водоймах до 21–25,5°C. Вже після викльову в першу добу розвитку (рис. 5.2.3) для вільних ембріонів білого амура були характерні наступні закономірності зміни активності СДГ відносно температури води: з її підвищенням з 22,5°C до 24,5°C активність ферменту падає. Максимальну активність зафіксовано при температурі 22,5°C, яка становила 9,87 нмоль/мг білка×хв., а мінімальну – при температурі 24,5°C – 5,35 нмоль/мг білка×хв., що на 45,7% менше. Проте, вже на другу добу розвитку характер коливань активності СДГ значно змінювався. При 22°C відмічено деяке зниження активності до 2,47 нмоль/мг білка×хв, далі з підвищенням температури всього на 1,0–1,5°C активність різко зростала на 43,6% та досягала свого максимуму (4,32–4,47 нмоль/мг білка×хв.), а мінімуму – при 25°C – 1,62 нмоль/мг білка×хв., що на 63,8% менше порівняно з максимумом.

Під час третьої доби розвитку мінімальна активність була відмічена при температурі 22°C та становила 2,23 нмоль/мг білка×хв., а максимальне (5,06 нмоль/мг білка×хв.) на 55,9% більше при 21°C. З наступним підвищенням температури до 23,5°C активність знову зростала на 21,5% порівняно з мінімумом. Очевидно, така хвилеподібна зміна активності СДГ є адаптивною відповіддю організму на погіршення кисневого режиму в водоймі. Це ще раз доводить ефективність визначення оптимальних умов існування для личинок та ембріонів на основі активності цього ферменту.

Вже протягом четвертої доби розвитку передличинок в діапазоні температур 21,5–23°C активність СДГ знаходився майже на одному рівні – 2,75–2,91 нмоль/мг білка×хв., проте за температури 25,5°C її рівень зростав на 61% порівняно з мінімумом до 7,05 нмоль/мг білка×хв.

На підставі власних досліджень чітко простежується, що за активністю СДГ можна судити про оптимальні або несприятливі тих чи інших умов середовища. Цей фермент швидко реагує на зменшення або збільшення розчиненого кисню в воді, а завдяки цьому можна стверджувати в якому напрямку йде метаболізм [245].

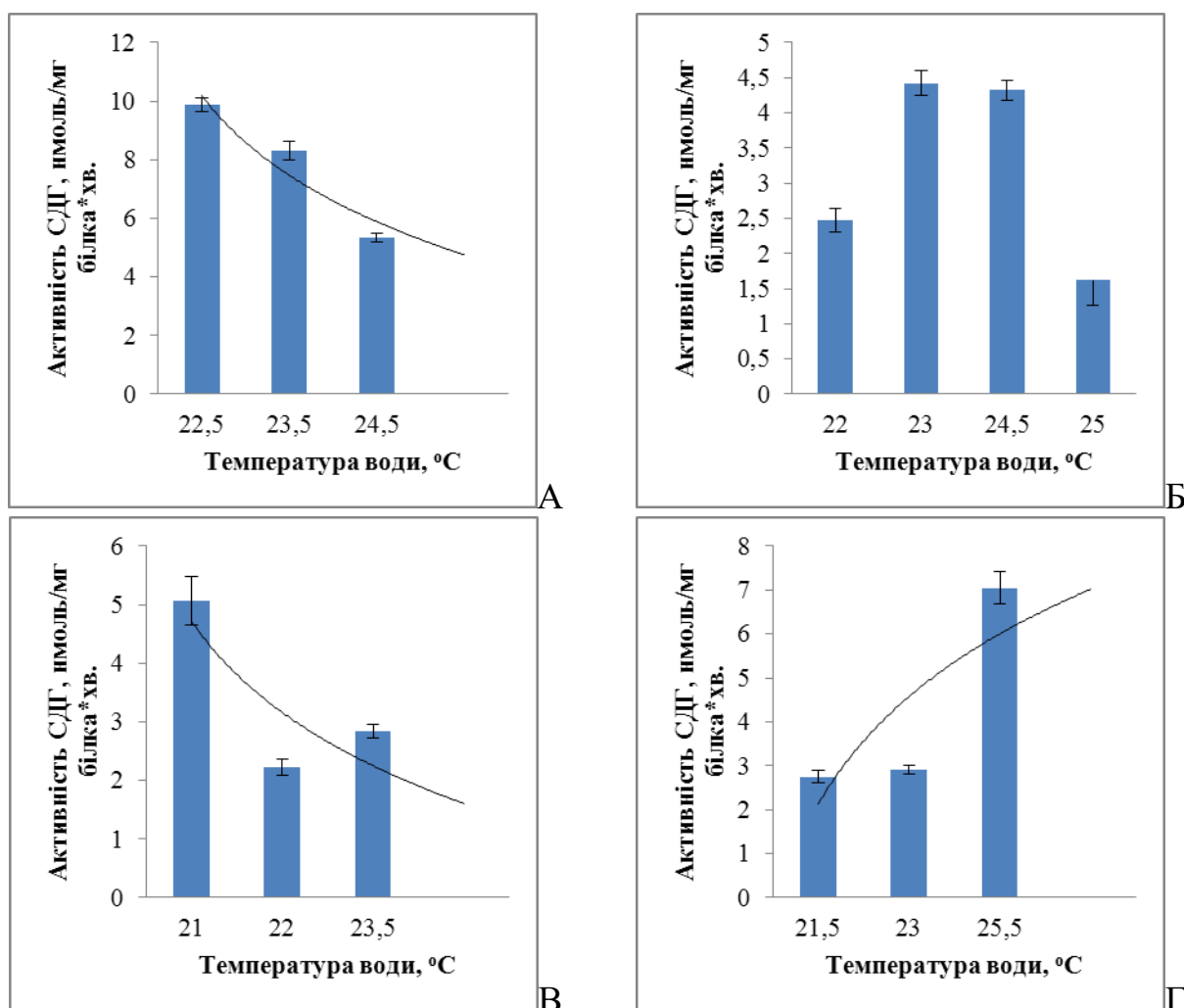


Рис. 5.2.3. Зміна активності СДГ в личинках білого амура під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба, Б – друга доба, В – третя доба, Г – четверта доба.

Короп. В ембріонах коропа також було досліджено активність СДГ. На початкових стадіях розвитку помітна пряма залежність між активністю ферменту та температурою оточуючого середовища. При підвищенні температури за межі оптимуму для цього виду активність СДГ падає (рис. 5.2.4). Максимальну її активність (6,38 та 6,14 нмоль/мг білка×хв.) було зафіксовано при температурі між 21 та 24,4°C відповідно. Мінімальна активність 1,06 нмоль/мг білка×хв. при температурі 30,8°C була в 6 разів менша, ніж при 21°C.

Подібну тенденцію ми спостерігали, аналізуючи дані активності СДГ і на стадії пігментації очей. З підвищенням температури активність ферменту різко падала з 7,95 нмоль/мг білка×хв. (23,2°C) до 0,68 нмоль/мг білка×хв. (28,2°C).

Якщо порівнювати з попередньою стадією розвитку, то на стадії пігментації очей активність ферменту зросла на 21% (24°C).

Анологічна закономірність у зміні активності сукцинатдегідрогенази спостерігалася на стадії рухливого ембріона. Під час підвищення температури рівень активності ферменту знижувався. Загальна активність СДГ, порівняно з попередньою стадією ембріогенезу, продовжила зменшуватися на 14% (25°C).

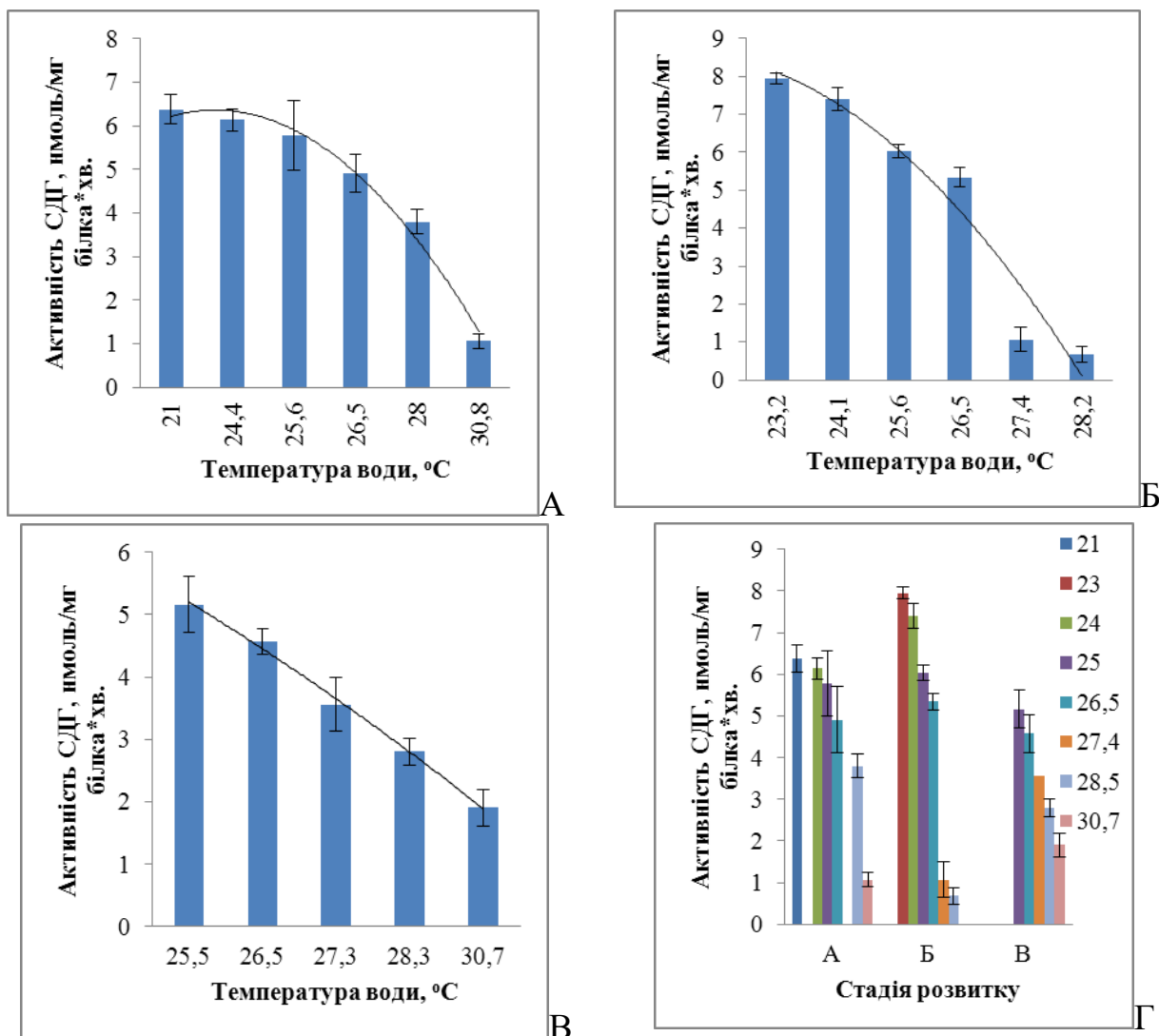


Рис. 5.2.4. Зміна активності СДГ в ікрі коропа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – відділення хвоста, Б – пігментація очей, В – рухливий ембріон.

Таким чином, аналізуючи ембріогенез коропа, можна дійти наступних висновків, що нетипове підвищення температури води в період нересту риб в природних умовах на тлі зниження вмісту кисню у воді істотно впливає на активність СДГ в ембріонах. При перевищенні кліматичних норм температури

змінюється спрямованість енергетичного обміну з аеробного на анаеробний. Таким чином, при ще подальшому зростанні температурного режиму на нерестовищах та досягненні граничних величин буде неможливо ефективно розмноження риб.

Також на активність СДГ були досліджені й передличинки коропа протягом перших чотирьох діб їх розвитку (рис. 5.2.5). В стаціонарних умовах під час першої доби при 22°C та при повному насиченні води киснем спостерігалася максимальна активність СДГ в передличинках (6,33 нмоль/мг білка×хв.). В природних умовах при температурі 26,5°C та доволі низькій концентрації розчиненого кисню зафіксовано мінімум активності ферменту, що на 50,6% менше, ніж в стаціонарних умовах. З підвищенням температури оточуючого середовища всього на 1°C активність зросла на 6,3% до 3,34 нмоль/мг білка×хв., а при 28°C вона вже була на 17% більшою порівняно з мінімумом. Різке зниження активності ферменту при 26,5°C чітко вказує на зменшення розчиненого кисню в воді та часткового переходу личинок на анаеробне окиснення. Далі з підвищенням температури води та відповідно зниженням концентрації кисню активність ферменту поступово зростає, але її рівні не були значними.

Абсолютно ідентична ситуація спостерігалася і на другу добу розвитку. Також максимальна активність СДГ спостерігалася в стаціонарних умовах при 22°C, а мінімальна – при температурі 26°C в природних умовах, і з подальшим підвищенням температури активність ферменту поступово збільшувалась.

Для третьої доби розвитку характерні зовсім інші закономірності, ніж це було в попередні дні. Тут вже мінімальна активність була відмічена при 22°C в стаціонарних та в природних умовах при температурі води 26,5°C, яка становила 1,93–2,03 нмоль/мг білка×хв. З підвищенням температури у водоймах активність СДГ поступово зростала та досягла свого максимуму при 28,5°C – 3,97 нмоль/мг білка×хв., що на 53,4% більше порівняно з мінімумом.

На четверту добу розвитку також зберігалася подібна тенденція. Мінімум зафіксовано при 22°C в стаціонарних умовах, а максимум при 29°C – 6,43 нмоль/мг білка×хв., що на 37,3% більше.

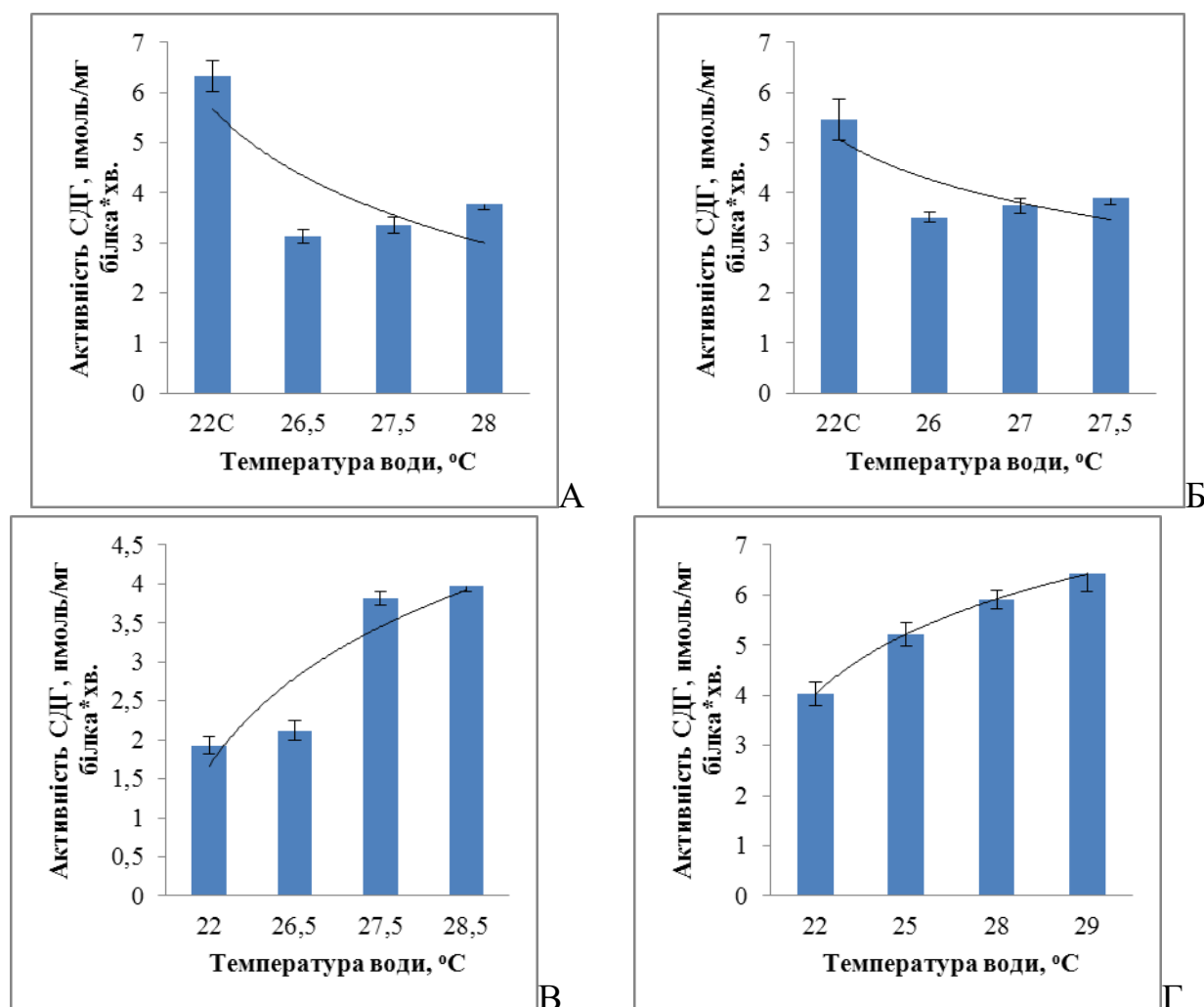


Рис. 5.2.5. Зміна активності СДГ в личинках коропа, під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба, Б – друга доба, В – третя доба, Г – четверта доба; С – стаціонарна температура води.

Протягом третьої та четвертої доби розвитку активність СДГ стрімко збільшується зі збільшенням температури оточуючого середовища, чого не було відмічено на перших двох днях, де було виявлено зворотну залежність. Це, можливо, вказує на те, що передличинки коропа після перших двох діб життя змогли більш ефективно адаптуватися до значно високих температур – 27–28°C і навіть до 29°C, на що вказує стабільно висока активність СДГ.

Окунь. Дослідження активності СДГ ембріонів та передличинок окуня показали те, що на ранніх стадіях розвитку – кінець гастрюляції, чітко проявляється пряма залежність між активністю ферменту та температурою води. З підвищенням температури води активність СДГ зростала (рис. 5.2.6). Мінімальну її активність було зафіксовано при температурі 10,2°C, яка становила 2,87 нмоль/мг білка×хв. Вже після збільшення температури води на 0,2°C активність СДГ зростала на 11% до 3,23 нмоль/мг білка×хв.. Максимум даної величини досягав при наступному підвищенні температури на 0,8°C – 3,51 нмоль/мг білка×хв., що на 18,2% більше порівняно з мінімальним його рівнем. Для ембріонів окуня на стадії розвитку – кінець гастрюляції оптимальними температурами для ембріонального розвитку були більше 11°C, про що свідчить різке збільшення активності СДГ.

Оскільки температури оточуючого середовища під час проведення досліджень на ікрі окуня були доволі низькими, то й на наступній стадії її розвитку зберігалася подібна закономірність, яку ми описували раніше. Чітко видно, що при температурах нижче 9°C активність ферменту знаходилася на незначному рівні. Саме при цих температурах і було зафіксовано мінімальну активність СДГ – 2,05 нмоль/мг білка×хв. при 8,7°C. Вже при збільшенні температури всього на 0,4°C нами було зафіксоване значне збільшення величини цього показника до 5,65 нмоль/мг білка×хв., що на 63,7% більше порівняно з мінімумом. Це є свідченням того, що як і на попередній стадії, для ембріонального розвитку окуня оптимальними є температури більше 9°C.

Істотне підвищення активності фермента при зростанні температури води продовжується й на наступній стадії розвитку – пігментації очей. Мінімальна активність СДГ була зафіксована при 14,9°C і становила 7,63 нмоль/мг білка×хв., далі, при збільшенні температури на 0,8°C її активність збільшилася на 6,3%. Проте, при наступному зростанні температури інкубації всього на 0,1°C чітко видно різкий стрибок активності до 13,43 нмоль/мг білка×хв., що на 43,2% більше порівняно з мінімумом. Це вказує на те, що температура

оточуючого середовища більша від 15,8°C суттєво прискорювала ембріональний розвиток окуня.

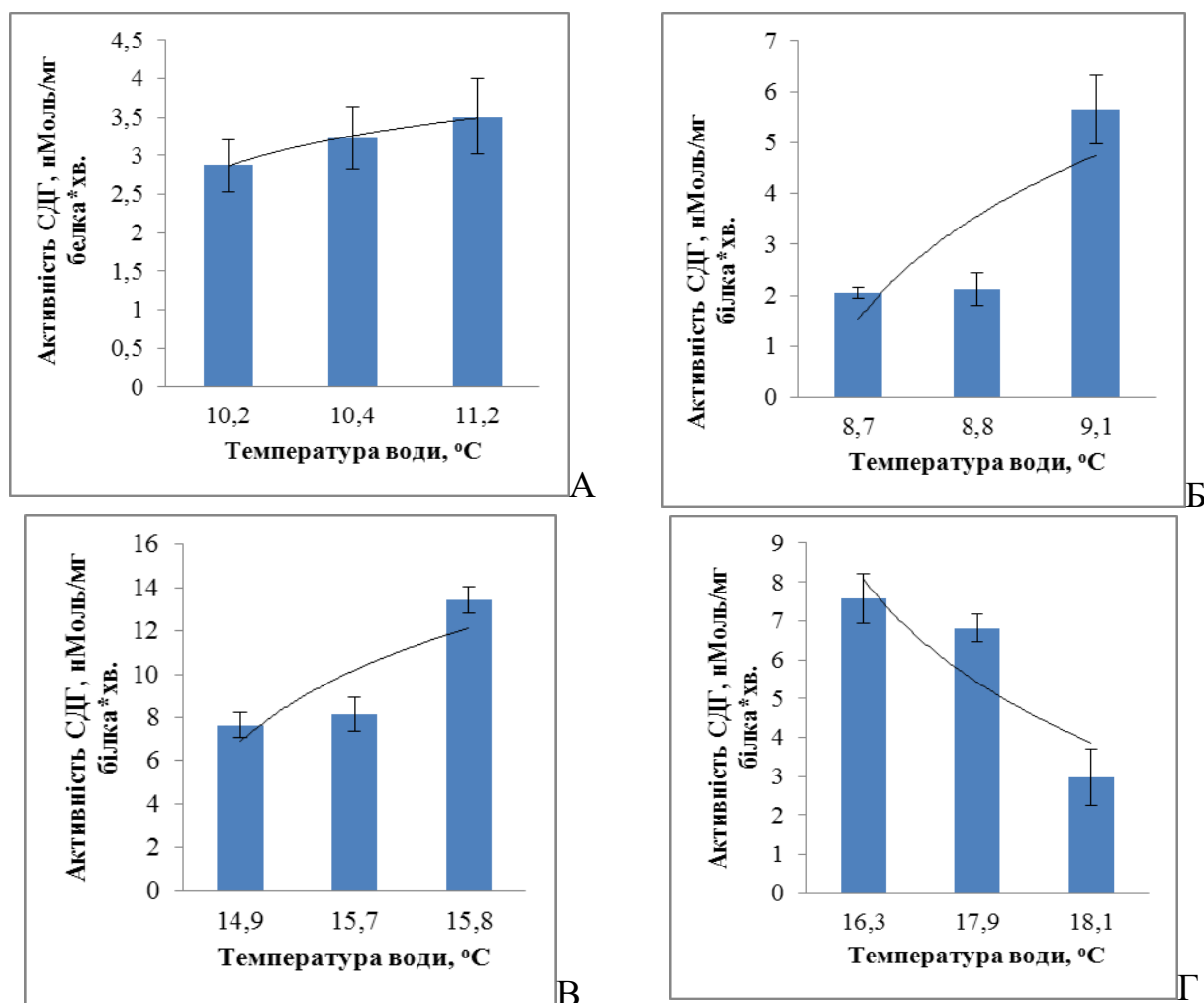


Рис. 5.2.6. Зміна активності СДГ в ікрі та передличинках окуня під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки окуня.

За наступного збільшення температури води вже на передличинковій стадії розвитку відмічена зовсім інша закономірність змін активності СДГ відносно цього чинника. Активність ферменту досягла максимального рівня при 16,3°C та становила 7,56 нмоль/мг білка×хв. При підвищенні температури води до 17,9°C її активність знизилася на 9,9%. Коли температура оточуючого середовища досягла 18,1°C, відбулося значне зниження величини цього показника до 2,98 нмоль/мг білка×хв., що на 60,6% менше порівняно з максимальним її рівнем. Відповідно, перевищення температурної норми для

розвитку вільних ембріонів негативно позначається на протіканні метаболічних процесів.

Аналіз даних власних досліджень зміни активності СДГ відносно коливань температури оточуючого середовища свідчить про те, що для нормального ембріонального та постембріонального розвитку окуня оптимальними температурами води є 9–11°C, які є також прийнятними температурами і для нормального розвитку є 14–15°C.

Плітка. Також активність СДГ залежно від температури води була досліджена і в ембріонах та передличинках плітки. На ранніх стадіях розвитку – кінець гастрюляції (рис. 5.2.7), було відмічена тенденцію, що при підвищенні температури води активність ферменту в ембріональних тканинах знижується. Максимальну активність сукцинатдегідрогенази було відмічено при температурі 16,9°C, яка становила 4 нмоль/мг білка×хв. З підвищенням температури активність ферменту поступово знижувалася та при 18°C досягає свого мінімуму – 3,27 нмоль/мг білка×хв., що на 18,2% менше порівняно з максимумом. Ця закономірність вказує на те, що для ембріонального розвитку плітки на початкових стадіях оптимальними є температури води менші за 17°C.

На стадії очні бокали відмічено таку ж тенденцію змін величини цього показника, як і на попередній стадії розвитку. Максимальна активність спостерігалася при температурі 15°C та становила 5,45 нмоль/мг білка×хв., а мінімальна – при 16,9°C – 3,78 нмоль/мг білка×хв., що на 30,6% менше.

Проте, вже на стадії пігментація очей температура у досліджуваних водоймах різко зменшилась до 14,4–14,8°C, що значно вплинуло на зміни активності СДГ. При збільшенні температури води всього на 0,2–0,3°C активність ферменту стабільно зростала. Це вказує на те що ці температури знаходяться в нижній частині оптимуму. Максимальна величина її була відмічена при температурі 14,8°C та становила 3,87 нмоль/мг білка×хв., а мінімальна – при 14,4°C – 3,49 нмоль/мг білка×хв., що на 9,8% менше.

Після вилуплення передличинок температура води у водоймах помітно зросла до 19,6–20,9°C. Максимальна активність ферменту була відмічена при

температурі 19,6°C та становила 8,9 нмоль/мг білка×хв., а мінімальна – при 20,2°C – 5,4 нмоль/мг білка×хв., що на 39% менше.

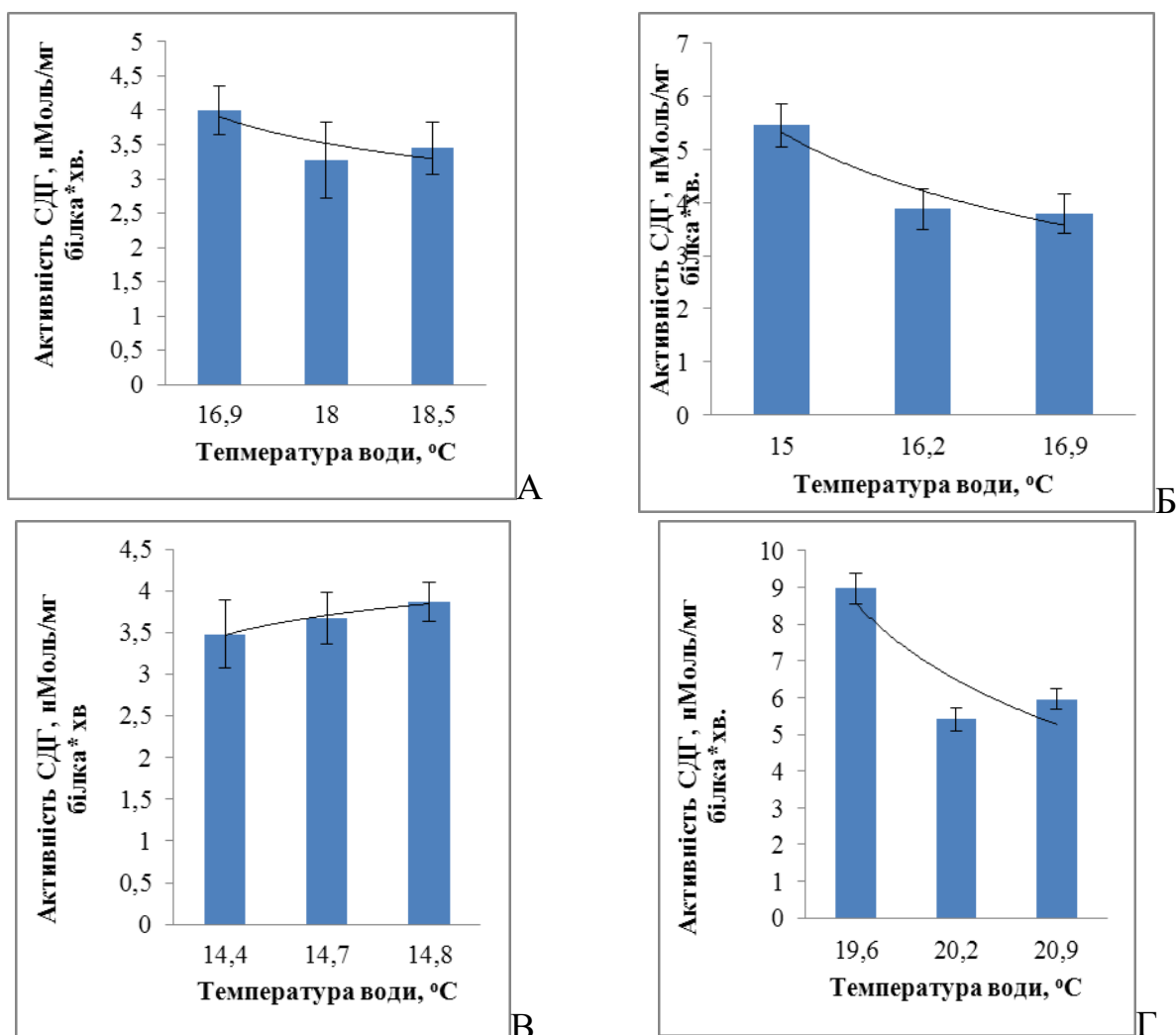


Рис. 5.2.7. Зміна активності СДГ в ікрі та передличинках плітки під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки плітки.

З вищевикладених результатів досліджень можна дійти наступних висновків: активність СДГ в ембріональних тканинах швидко реагувала на зміну умов середовища, в першу чергу, на температурний режим. На підставі даних з активності СДГ можна стверджувати, що для ембріонального розвитку плітки в середині оболонки оптимальними температурами є 15–16°C, а для стадії передличинки – менше 20°C. Переважання оптимального рівня температури може негативно позначитися на ембріональному розвитку цього виду риб.

Йорж. Аналогічні дослідження було проведено і на ембріонах та передличинках йоржа. На ранніх стадіях розвитку (кінець гастрляції) чітко просліджувалася наступна закономірність: з підвищенням температури активність СДГ різко знижувалася (рис. 5.2.8). Максимальну активність ферменту було відмічено при 13,6°C, вона становила – 30,64 нмоль/мг білка×хв., а мінімальну – при температурі 14,4°C – 19,35 нмоль/мг білка×хв., що на 36,8% менше.

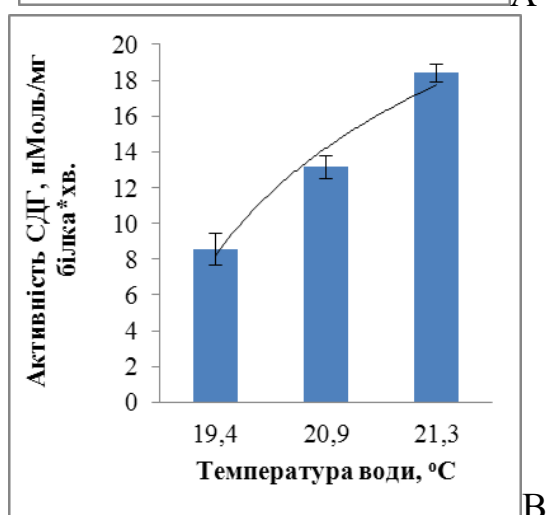
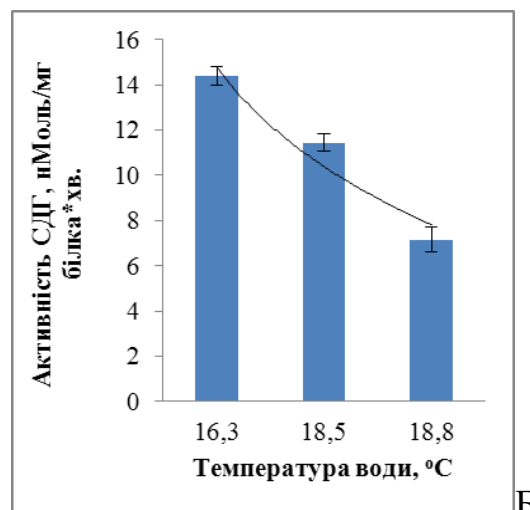
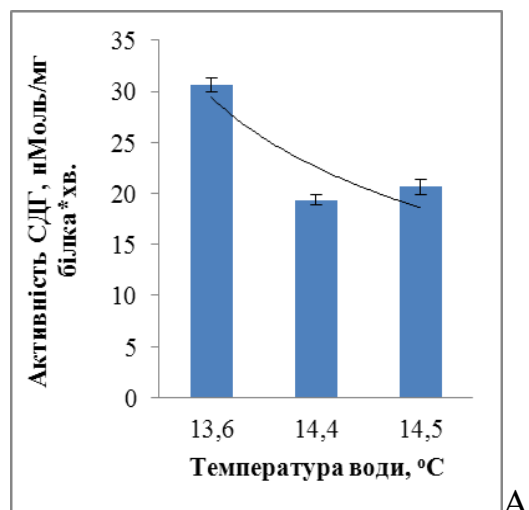


Рис. 5.2.8. Зміна активності СДГ в ембріонах та передличинках йоржа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрляції, Б – очні бокали, В – передличинки йоржа.

Під час наступної стадії розвитку (очні бокали) суттєво на 3–4°C підвищилась температура у водоймах, що, в свою чергу, вплинуло на активність СДГ. Порівняно з попередніми рівнями вона значно знизилася. Максимальну її активність було зафіксовано при температурі 16,3°C. Вона становила 14,39 нмоль/мг білка×хв., а мінімальну – при 18,8°C – 7,16 нмоль/мг білка×хв., що на 50,2% менше. Це також вказує, що температури до 16,3°C є сприятливішими для ембріогенезу йоржа.

Проте вже після вилуплення відмічалось значне збільшення температури оптимуму для передличинок. Вже при температурі 19,6°C ми фіксуємо мінімальну активність СДГ впродовж усього діапазону досліджуваних температур. Зі збільшенням температури на 1,5°C активність зросла на 34,8% та становила 13,15 нмоль/мг білка×хв., а при 21,3°C досягала свого максимуму – 18,41 нмоль/мг білка×хв., що на 53,4% більше порівняно з мінімумом.

Отримані дані свідчать про те, що для нормального ембріонального розвитку йоржа оптимальними температурами є діапазон температур в межах 14–18°C, а раннього постембріонального – 20–21°C.

5.3. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми.

Зміна співвідношення СДГ/ЛДГ в бік збільшення лактатдегідрогеназної і зменшення сукцинатдегідрогеназної активності свідчить про переважання анаеробних процесів та пригнічення окисно-відновних. Відомо, що зі зміною температури води нижче оптимальної активність метаболічних процесів значно сповільнюється, відбувається генерування енергії гліколітичним шляхом, зокрема за рахунок підвищення активності ЛДГ. Цей фермент є ключовим ферментом гліколізу, а його активність використовуються для визначення рівня анаеробного обміну в організмі [156–158, 160].

Білий товстолобик. Дослідження ембріонів білого товстолобика за активністю лактатдегідрогенази показали, що цей фермент завжди адекватно реагував на зміни умов середовища зміною своєї активності. Так, на стадії кінець гастрюляції для цього виду відмічено, що в межах температури від 23 до 29°C активність ферменту знаходилася на доволі низькому рівні 1,7–1,9 мМоль НАДН/хв.×мг (рис. 5.3.1). Проте, при подальшому підвищенні температури до 30°C активність ЛДГ в ембріональних тканинах істотно зростає в 1,7 рази. Найвищу її активність ми зафіксували при температурі 31°C – 3,6 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Саме при цій температурі спостерігалось значне

зменшення рівня розчиненого кисню в воді, особливо в передранкові години (до $3,8 \text{ мг/дм}^3$), та підвищення тератогенного впливу екологічних чинників на розвиток ембріонів.

Таким чином, з підвищенням температури води та зниженням концентрації розчиненого кисню на ембріональних стадіях розвитку білого товстолобика генерування енергії здійснюється гліколітичним шляхом.

На стадії очні бокали рівень активності ЛДГ при всіх температурах води знижувалася та становила від 1,32 до 2,06 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Проте, відмічено значне підвищення активності ферменту в 8,3 рази при температурі 29°C порівняно з 23°C . Це пояснюється тим, що саме в цей період відбулося істотне падіння концентрації розчинного кисню у воді до $3,5 \text{ мг/дм}^3$ і ембріони почали активно застосовувати гліколіз для забезпечення енергією організму.

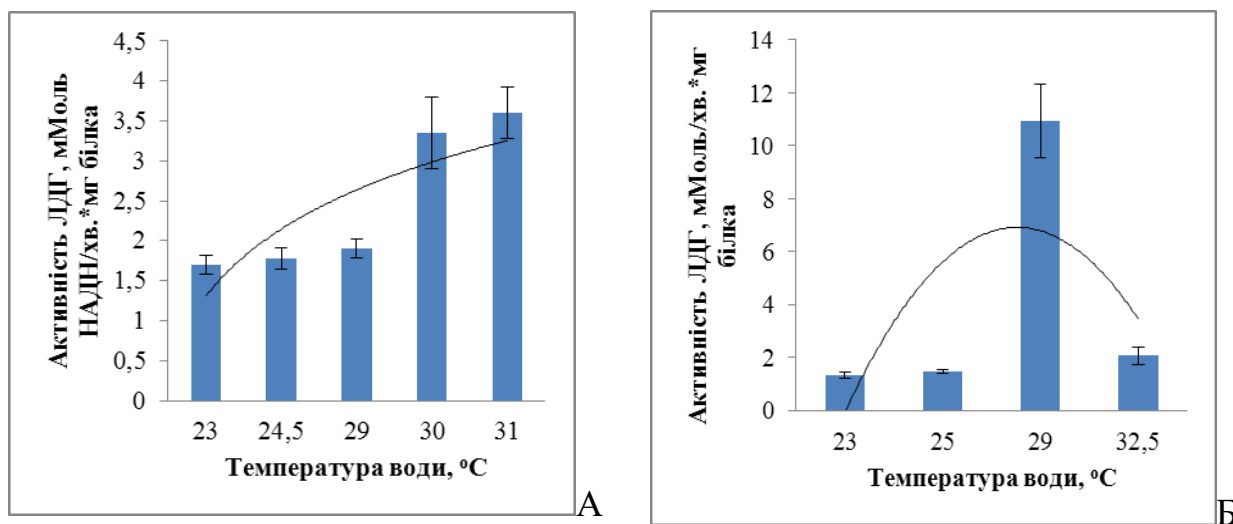


Рис. 5.3.1. Зміна активності ЛДГ в ебріонах білого товстолобика під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – стадія кінець гастрляції, Б – очні бокали.

При досягненні температури $32,5^\circ\text{C}$ активність ЛДГ суттєво знизилася, що свідчить про досягнення критичного її рівня для нормального розвитку ембріонів товстолобика. При цій температурі кількість аномалій розвитку наближається до 90%.

Дані з активності ферменту протягом всього ембріонального розвитку свідчать, що при менших величинах досліджуваних температур води (до 29°C) та за достатнього (більш за $5,0 \text{ мг/дм}^3$) вмісту розчиненого кисню у воді

активність ЛДГ була нижчою протягом всього ембріогенезу риб. З підвищенням температури оточуючого середовища активність ферменту збільшувалася в 2,1 рази з 1,7 мМоль НАДН/хв.×мг (23°C) до 3,6 мМоль НАДН/хв.×мг (32°C).

Також, спостерігалось зменшення активності ферменту на 22% при температурі 23°C, 18,5% – при 25°C, 43% – при 32°C на стадії очні бокали порівняно з попереднім етапом розвитку. За активністю ЛДГ добре помітна реакція ембріона на зниження рівня насичення води киснем (до 3,5 мг/дм³ при 29°C в передранкові години) на стадії очні бокали, її активність істотно зростає, що свідчить про активацію гліколізу [243].

Білий амур. Для білого амура за активністю ЛДГ спостерігається більш широкий діапазон температур для нормального розвитку ембріонів. Зокрема на стадії кінця гастрюляції відмічено низьку активність лактатдегідрогенази та без значних змін в усьому діапазоні температур від 19,6°C до 29,5°C (рис. 5.3.2). Мінімальна активність ферменту спостерігалася при температурі 19,6°C – 1,26 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Максимальна її активність була при 29,5°C – 1,73 мМоль НАДН/хв.×мг білка. На рисунку 5.3.2 видно чітку пряму залежність між показниками, при збільшенні температури води активність ферменту пропорційно зростає. Крім того, причиною цього може служити поступове зменшення насичення води киснем.

На наступній стадії розвитку (очні бокали) йде незначне зростання активності ферменту, але також не помітно істотних коливань, як і для попередньої стадії. Це може свідчити про значні резерви організму для пристосування до широкого діапазону температури, чого ми не спостерігали у білого товстолобика.

Активність цього ферменту збільшувалася в діапазоні температур 22–23,5°C на 31–50% порівняно з 20,5°C та на 20–33% порівняно з 33°C. Підвищену активність ЛДГ на стадії очні бокали, за достатнього насичення води киснем (5,0–6,3 мг/дм³) можна пояснити більшою чутливістю ембріона до змін умов

навколишнього середовища, що підтверджується й іншими показниками, які визначались у цій роботі.

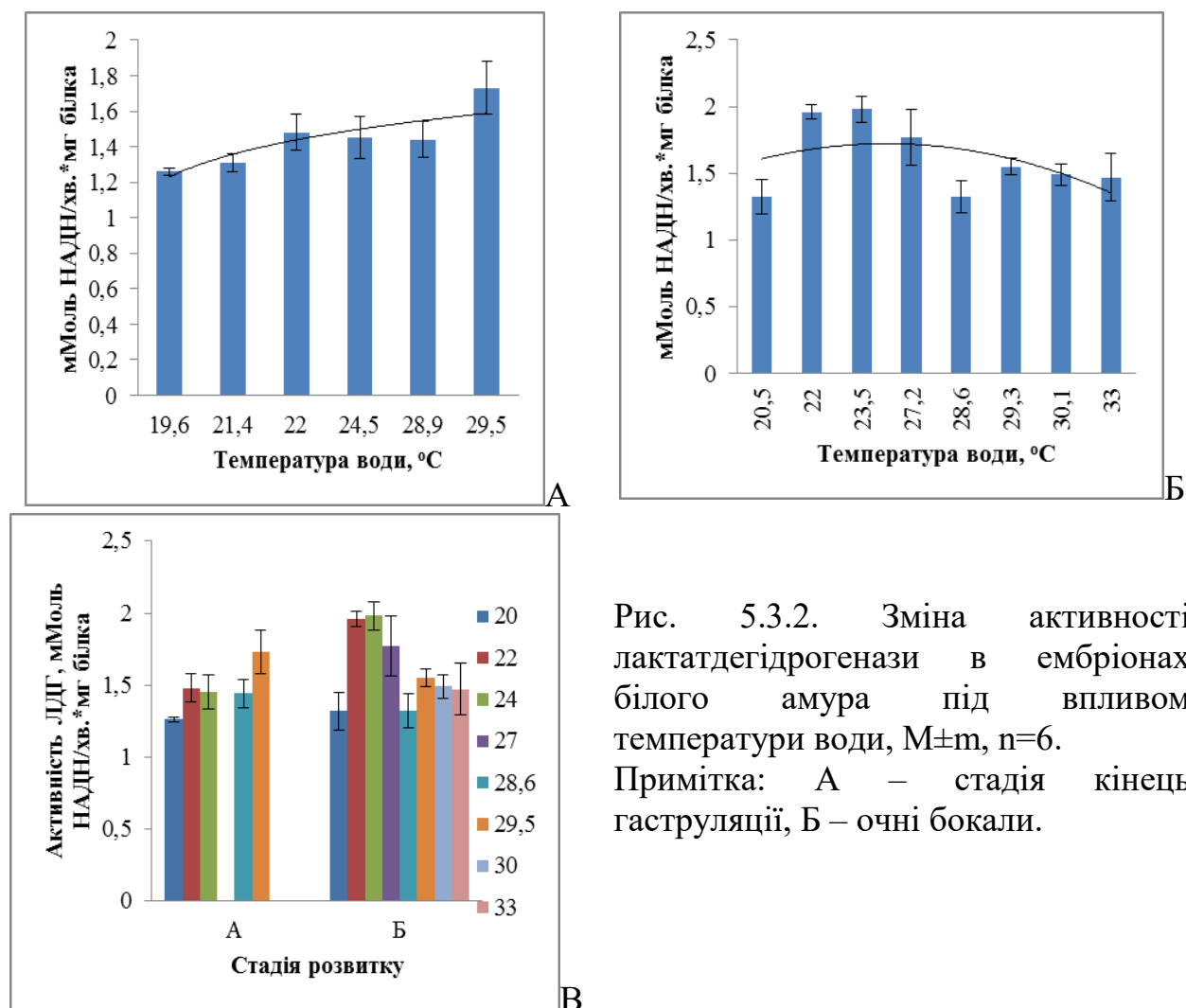


Рис. 5.3.2. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах білого амура під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.
Примітка: А – стадія кінець гастрюляції, Б – очні бокали.

Аналізуючи дані з активності ферменту протягом всього ембріонального розвитку білого амура, можна дійти висновку, що ембріони білого амура стійкі до широкого діапазону температур. Нормальний розвиток проходить від 20°C до 32°C (за умови достатнього насичення води киснем). Проте при максимальних величинах температур спостерігалася підвищена загибель зародків та істотне збільшення кількості їх аномального розвитку.

Дослідження передличинок білого амура показали, що протягом першої доби їх розвитку яскраво виражена пряма залежність між активністю ЛДГ та температурою води (рис. 5.3.3). Мінімальна її активність зафіксована при температурі оточуючого середовища 22,5°C – 4,43 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Зі збільшенням температури активність стрімко зростала на 32,2% (23,5°C) та

44,4% (24,5°C) порівняно з мінімальною її величиною. Це свідчить, про те що нижчі температури були сприятливими для розвитку личинок. Оскільки, температури 23–25°C не є пороговими для личинок білого амура, то ситуацію з різким підвищенням активності ЛДГ можна пояснити зниженням в передранкові години розчиненого кисню у воді до 3,9–4,2 мг/дм³, що й спричинило перебудову метаболічних процесів в анаеробне русло.

Коливання концентрації кисню у воді біля нижніх порогових величин для цього виду риб продовжилось і в наступні дні розвитку, що призвело до підвищення активності ферменту в ембріональних тканинах.

На другу добу розвитку передличинок найбільш оптимальною температурою була 25°C, при якій спостерігався мінімальна її активність ЛДГ – 2,23 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Максимум було відмічено за температури 23°C – 4,15 мМоль НАДН/хв.×мг, що на 46,2% більше порівняно з мінімумом.

Протягом третьої доби розвитку температура у водоймах знизилась на 1,5–2°C, але це жодним чином не вплинуло на насиченість води киснем. Саме в цю добу було зниження атмосферного тиску, періодично йшов дощ і тому рівень кисню в водоймах був невисоким (ранок – 3,5–4,0 мг/дм³) і, як наслідок цього, ми можемо відмітити високу активність ЛДГ. Мінімальну її активність зафіксовано при 22°C, яка становила – 4,51 мМоль НАДН/хв.×мг, а максимальну при 23,5°C – 7,67 мМоль НАДН/хв.×мг, що на 41,2% більше.

На наступну добу розвитку (четверту) зберігалася подібна тенденція. Активність ферменту продовжувала залишатись на високому рівні. Максимум активності відмічено за температури 21,5°C – 15,01 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Проте вже зі збільшенням температури всього на 1,5 зафіксовано мінімальну її активність – 4,79 мМоль НАДН/хв.×мг білка.

Таким чином, за результати досліджень можна стверджувати, що активність ЛДГ та СДГ, і їх співвідношення у ембріональних тканинах личинок є чутливими індикаторами впливу умов середовища на ембріональний розвиток риб. Саме ці ферменти своєчасно та адекватно реагують на найменші зміни

температурного та кисневого чинників, що дає нам можливість оцінити сприятливі умови існування.

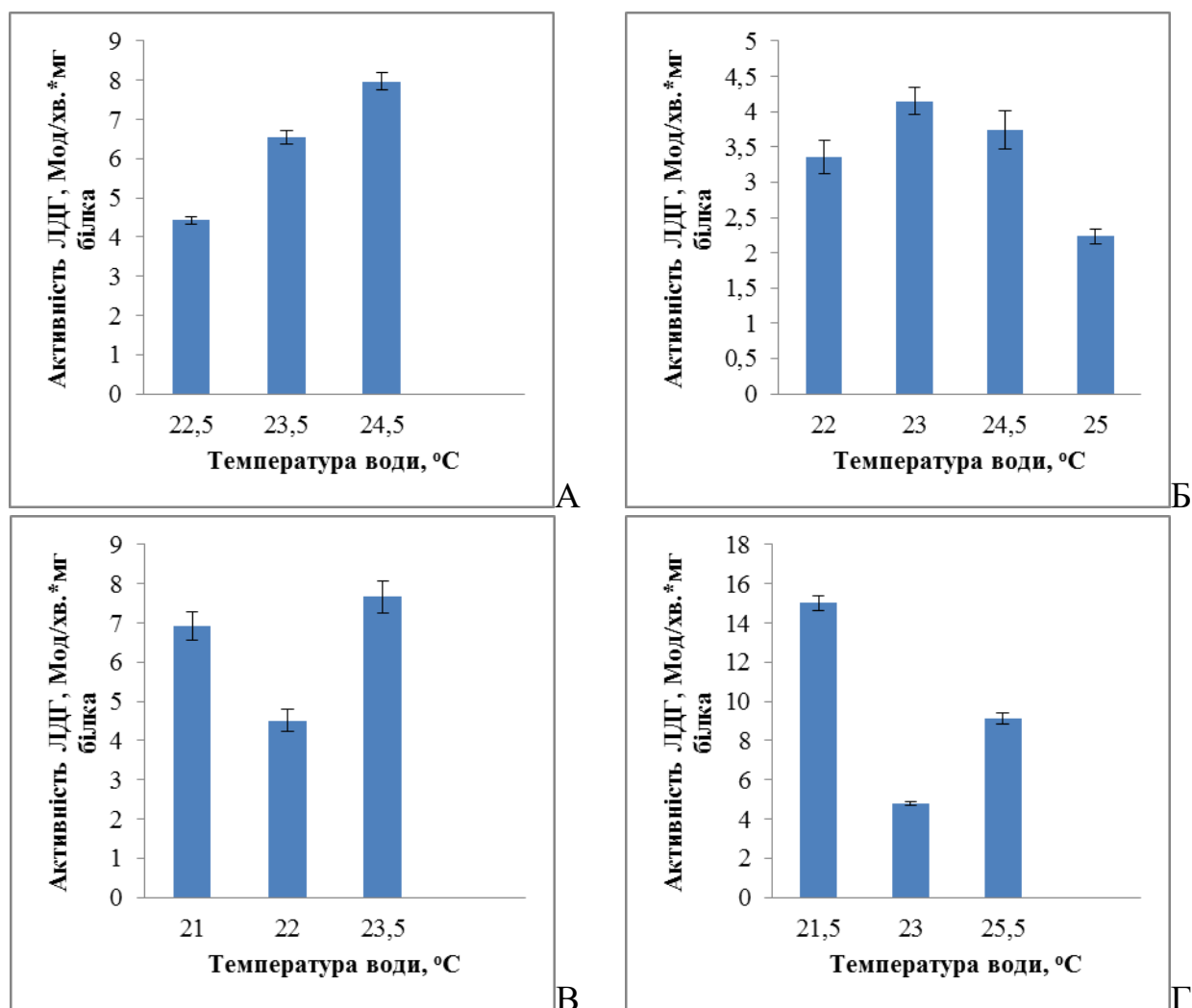


Рис. 5.3.3. Зміна активності лактатдегідрогенази в личинках білого амура під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку

Постійна висока активність ЛДГ не може не позначитись на життєздатності та якості личинок білого амура. Нами було відмічено зменшення виживання ембріонів, підвищення кількості аномалій їх розвитку та зміну масово-розмірних характеристик.

Короп. Під час ембріонального розвитку коропа активність ЛДГ також чітко, як і інших досліджуваних риб, реагував на зміну умов навколишнього середовища. На початкових стадіях розвитку (кінець гастрюляції) просліджувалась прямолінійна залежність: зі збільшенням температури активність ферменту зростала (рис. 5.3.4). Мінімальну її активність

спостерігали при температурі 21°C – 2,77 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Вже при 23°C активність ЛДГ зростає в 1,8 рази до 5,18 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що може свідчити про несприятливі умови для ембріонального розвитку.

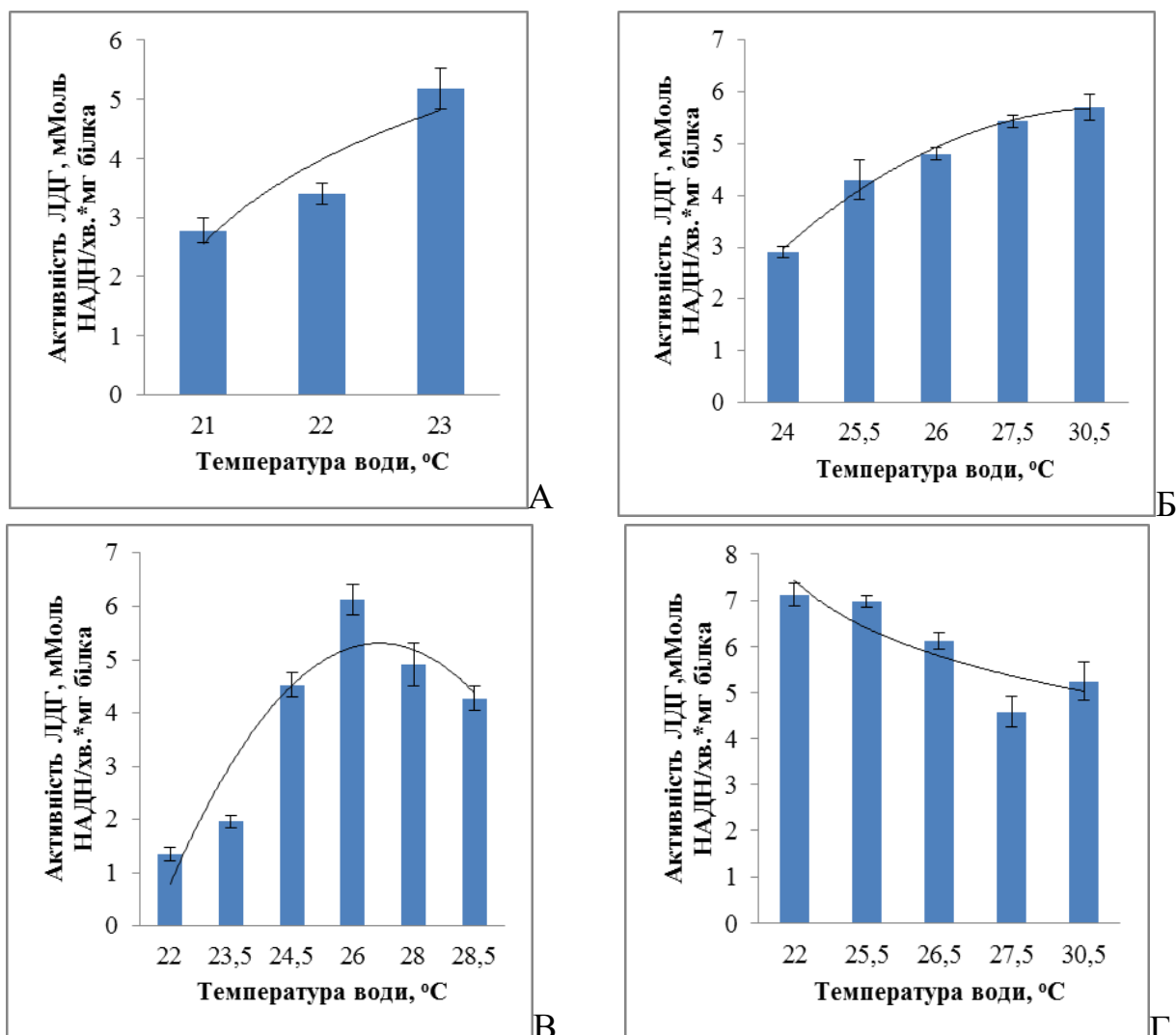


Рис. 5.3.4. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах коропа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – стадія кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – рухливий ембріон.

На наступній стадії розвитку (очні бокали) зберігалася подібна, як і на попередньому етапі розвитку, закономірність з підвищенням температури активність ЛДГ різко збільшується. Мінімальну активність ферменту 2,9 мМоль НАДН/хв.×мг білка спостерігали при дещо вищій температурі (24°C), ніж це було на попередній стадії (21°C – 2,77 мМоль НАДН/хв.×мг білка). Ця розбіжність в мінімальній активності ферменту по відношенню до температури може вказувати на підвищення резистентності до змін умов середовища в

процесі розвитку ембріону. Тобто, на стадії очні бокали збільшувалися межі оптимальної температури для ембріонального розвитку порівняно з гастрюляцією. Максимальну її активність ЛДГ було зафіксовано при 30,5°C – 5,71 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що в 1,9 рази більше, ніж при 24°C.

На наступній стадії розвитку (пігментація очей) можна відмітити, що мінімальна її активність ЛДГ була при температурі 22°C – 1,35 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Далі при підвищенні температури величина цього показника стрімко зростала, і максимальне значення 6,12 мМоль НАДН/хв.×мг його було при 26°C. Проте, при подальшому збільшенні температури до 28,5°C активність ферменту почала знижуватися і була меншою на 30%, ніж при 26°C. Це можна пояснити тим що, ймовірно, ембріон використавши всі свої енергетичні резерви, повністю виснажився і вже був невзможі протистояти постійному підвищенню температури. Ембріони коропа активно протидіють підвищенню температури до 26°C, активно при цьому використовуючи гліколіз. За вищих з досліджуваних величин температури активність ферменту різко знижувалася, що в поєднанні з іншими показниками (активністю АТФ-ази, СДГ та протеаз) вказує на неспроможність організму боротися з подальшим їх підвищенням.

Під час наступної стадії розвитку (рухливий ембріон) активність ЛДГ вказує на те, що безпосередньо перед вилупленням для ембріонів коропа анаеробне дихання має вирішальне значення, незважаючи на достатнє насичення води киснем. Про це свідчить підвищена активність ферменту навіть в оптимальному діапазоні температур для цього виду та достатній насиченості киснем води. Максимальні величини було зафіксовано при температурі води 22°C – 7,12 мМоль НАДН/хв.×мг білка. З підвищенням температури активність ЛДГ поступово знижується. Також, її активність істотно зросла порівняно з попередньою стадією розвитку, а саме в 5,2 рази за температури 22°C, на 53% при 25°C.

За результатами досліджень можна стверджувати, що активність лактатдегідрогенази протягом всього ембріогенезу коропа чітко реагує на зміну умов середовища, а також залежить від стадії розвитку зародків.

Оптимальною температурою для нормального розвитку ембріонів коропа можна вважати 22–24°C, при подальшому її підвищенні ембріони коропа продовжують розвиватись, але з більшою кількістю їх аномалій та зі значним зменшенням життєздатності.

Також активність ЛДГ досліджували і в передличинках коропа. Протягом першої доби розвитку мінімальну активність зафіксовано при 22°C, яка становила 18,4 мМоль НАДН/хв.×мг білка (рис. 5.3.5). Діапазон температур 26,5–27,5°C виявився для розвитку личинок найменш оптимальним, адже саме тоді активність ферменту була максимальною та коливалася в межах 28,9–29,05 мМоль НАДН/хв.×мг білка. З підвищенням температури водою всього на 0,5°C до 28°C активність зменшувалася на 22,2%. Це вказує на те, що передличинки переходять на інші шляхи енергозабезпечення за цих умов або настає фаза виснаження організму, та уповільнюється їх ембріональний розвиток.

На другу добу розвитку відмічено максимальну активність ЛДГ при 22°C, що яскраво свідчить про невідповідність зазначених умов оптимальним. Проте, вже при 26°C ми спостерігали мінімальну активність ферменту – 14,09 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 51,4% менше. Далі, з поступовим підвищенням температури активність ферменту стабільно зростає. Це вказує на наближення температури води до верхнього порогу можливості нормального розвитку передличинкових стадій цього виду риб.

Більш прогнозовану ситуацію можна спостерігати на третю добу розвитку, де активність знаходилася майже на одному рівні в діапазоні температур 22–27,5°C. Але, досягнувши температури 28°C, значно зростала активність ЛДГ та досягала максимального рівня – 39,09 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 35,6% більше порівняно з мінімумом. Це також вказує на істотне погіршення кисневих умов та наближення до порогових рівнів температури.

Подібна закономірність зберіглась і на четверту добу розвитку личинок. В діапазоні температур 22–28°C активність коливалася в доволі вузькому діапазоні та мала мінімальну величину – 14,21 мМоль НАДН/хв.×мг білка при 25°C. Максимальну її активність зафіксовано при 29°C – 24,64 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 42,3% більше порівняно з мінімумом.

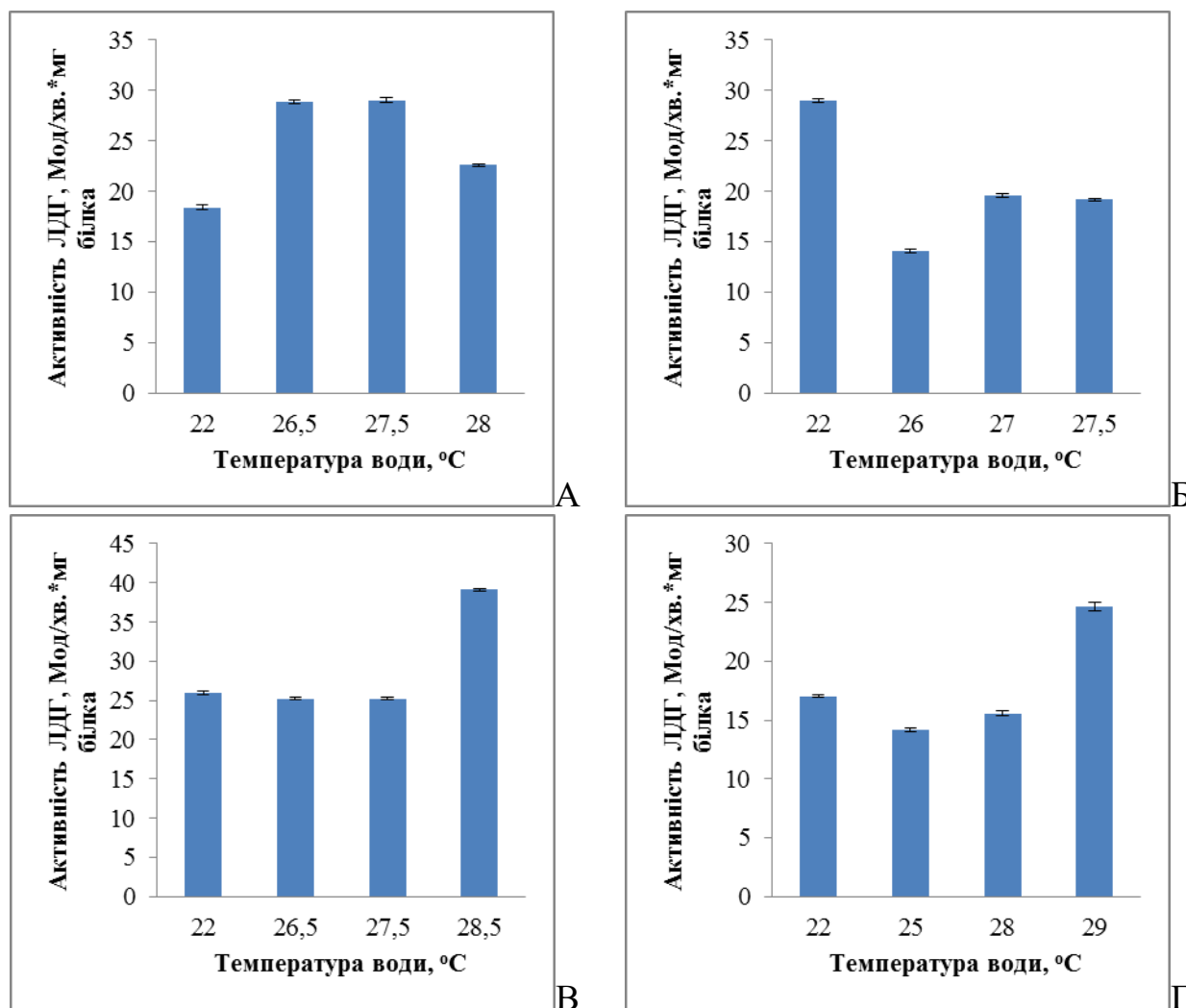


Рис. 5.3.5. Зміна активності лактатдегідрогенази в личинках коропа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – перша доба розвитку, Б – друга, В – третя, Г – 4 доба розвитку

Аналіз результатів досліджень активності ЛДГ за дії температурних та кисневих коливань у воді ще раз показав високу її чутливість. При найменшому наближенні до порогових рівнів розчиненого кисню або температури активність ферменту відповідно реагувала. Це можна особливо простежити під час розвитку личинок протягом третьої та четвертої доби, коли з наближенням температури води до 28°C активність стрімко зростала. Найкращими

температурами для розвитку личинок коропа можна вважати діапазон від 22 до 27°C.

Окунь. Дослідження проведені на окуні свідчать, що на ранніх стадіях розвитку (кінець гастрюляції) при температурі 10,2°C активність ЛДГ в ембріонах становила 2,98 мМоль НАДН/хв.×мг білка (рис. 5.3.6). З підвищенням температури води всього на 0,2°C відбувалася істотне зниження її активності на 40,9% до 1,76 мМоль НАДН/хв.×мг білка. Це може свідчити про те, що температура наближається до оптимальної для раннього ембріогенезу окуня. Саме лактатдегідрогеназа є ферментом анаеробного окислення, яке, в свою чергу, менш ефективно порівняно з аеробним. За температури 11,2°C активність ЛДГ дещо збільшується, але все ж залишається меншою за максимальну її величину на 19,8%.

Під час наступної стадії – очні бокали, температури води в досліджуваних водоймах знизились до 8,7–9,1°C. На ці зміни ембріони також відреагували зміною активності ЛДГ. На рис. 5.3.6 поростежується підвищення активності ферменту на цій стадії розвитку порівняно з попередньою, при низьких температурах води. Максимальну активність було зафіксовано при 8,7°C, яка становила 3,93 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а мінімальна при 9,1°C – 2,91 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 25,9% менше.

На наступній стадії розвитку (пігментація очей) спостерігалася протилежна закономірність, ніж яка була на попередніх стадіях. З підвищенням температури води активність ЛДГ в ембріональних тканинах зростала. Причиною такої зміни попередньої закономірності стало суттєве підвищення температури у досліджуваних водоймах до 14,9–15,8°C. Мінімальну активність ферменту спостерігали при 14,9°C, яка становила 2,27 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальну – при 15,8°C – 3,08 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 26,3% більше.

Вже після вилуплення ембріонів на стадії передличинок продовжувалося підвищення температури в досліджуваних водоймах до 16,3–18,1°C. Мінімальну активність ферменту було зафіксовано при 16,3°C, яка становила

3,7 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальну – при 18,1°C – 5,71 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 35,2% більше. Істотне збільшення активності ЛДГ пояснюється зменшенням концентрації кисню у воді на той час до 3,5–4,3 мг/дм³.

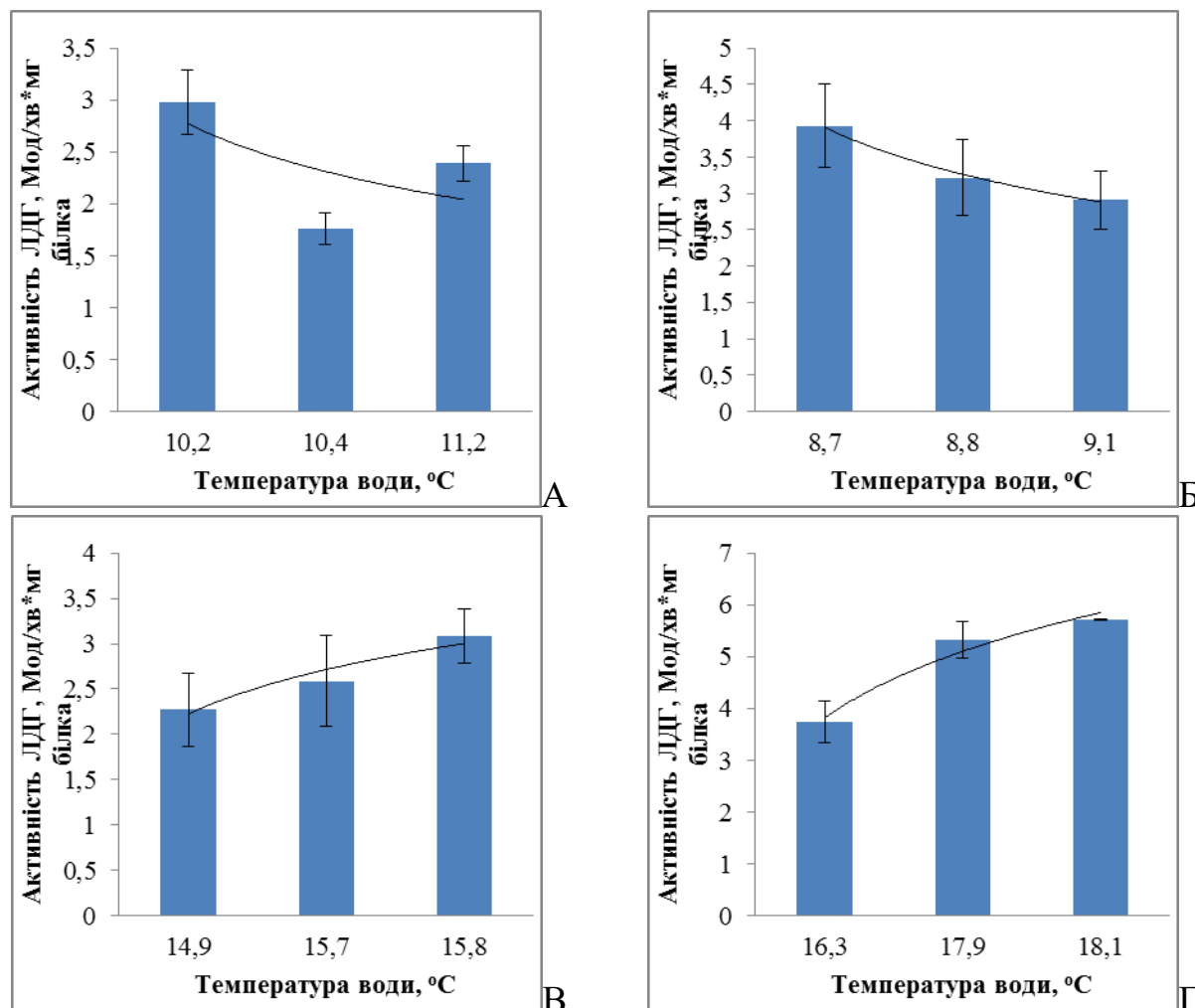


Рис. 5.3.6. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах та передличинках окуня під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки окуня.

Аналізуючи дані власних досліджень, можна дійти наступних висновків: на ранніх стадіях ембріонального розвитку (кінєць гастрюляції та очні бокали) спостерігалася максимальна активність ЛДГ при мінімальних температурах протягом усього досліджуваного діапазону. Це свідчить про те, що за цих умов для енергозабезпечення нормального ембріогенезу відбувається за рахунок гліколізу. Вже на наступній стадії розвитку при істотному підвищенні температури води активність ЛДГ була найменшою при мінімальних величинах температури (14,9°C), що свідчить про те, що вона є найбільш оптимальною для

органогенезу ембріонів окуня. Подібну картину спостерігали і в процесі формування передличинок. Це вказує на те, що для нормального ембріонального та постембріонального розвитку окуня оптимальним діапазоном температур є 14,5–16°C.

Плітка. Дослідження активності ЛДГ залежно від коливань температури навколишнього середовища в ембріонах та передличинках плітки показали, що на стадії кінця гастрюляції при збільшенні температури води активність ЛДГ зростає (рис. 5.3.7). Мінімальну активність було зафіксовано при температурі 16,9°C, яка становила – 9,38 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальну – при 18°C – 16 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 41,4% більше.

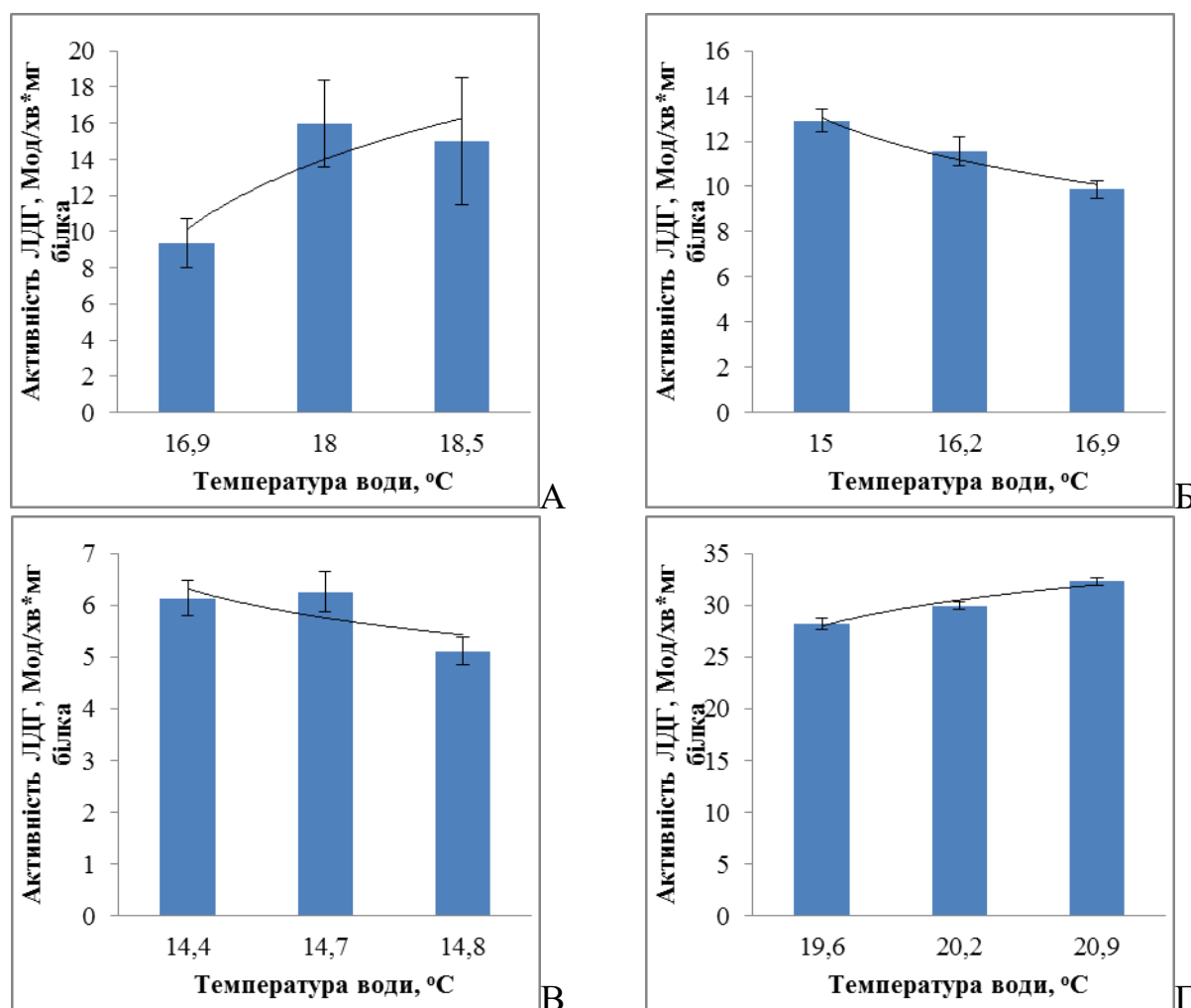


Рис. 5.3.7. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах та передличинках плітки під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – пігментація очей, Г – передличинки плітки.

На наступній стадії спостерігалася протилежна тенденція: з підвищенням температури води активність ферменту знижується. Слід також відмітити, що

протягом цього етапу розвитку температура води у досліджуваних водоймах знизилась на 1,5–2°C та становила 15,0–16,9°C. Максимальну активність ферменту було зафіксовано при мінімальній температурі (15°C) з цього діапазону – 12,9 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а мінімальну – при 16,9°C – 9,9 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 23,3% менше.

Під час наступної стадії розвитку (пігментація очей) температура в досліджуваних водоймах продовжувала знижуватись та досягла 14,4–14,8°C. Ці температури не були оптимальними для нормального ембріогенезу плітки, про що свідчить значна активність ЛДГ. Максимальну активність ферменту було зафіксовано при температурі 14,7°C – 6,25 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а мінімальну – при 14,8°C – 5,11 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 18,2% менше.

Висока активність ЛДГ в передличинках плітки також вказує на несприятливі умови середовища для нормального ембріогенезу. Слід також відмітити, що під час розвитку передличинок рівень розчиненого кисню у воді був в межах 3,2–3,7 мг/дм³. Низьку його концентрацію було відмічено лише в передранкові години, а після 8 год. ранку оптимальний рівень кисню поступово відновлювався. Проте навіть такий короткочасний дефіцит кисню у воді впливав на перебіг метаболічних процесів в передличинках плітки, змістивши його в сторону анаеробного енергозабезпечення. Мінімальна активність ЛДГ була при температурі 19,6°C та становила – 28,18 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальна – при 20,9°C – 32,3 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 14,6% більше.

Аналізуючи дані власних досліджень щодо активності ЛДГ, можна стверджувати, що температура води в межах 16–17°C є найбільш оптимальною для нормального ембріонального розвитку плітки.

Йорж. Подібні дослідження зміни активності ЛДГ залежно від коливань температури водойм було проведено і на ембріонах та передличинках йоржа. Для початкової стадії розвитку (кінець гастрюляції) характерним є те, що температура води у водоймах була 13,6–14,5°C, а активність ферменту знаходилась на доволі низькому рівні (рис. 5.3.8). Проте спостерігалася

тенденція, що з підвищенням температури активність ферменту дещо зростала. Мінімальну її активність було зафіксовано при температурі 13,6°C, яка становила 1,9 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальну – при 14,5°C – 2,34 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 18,8% більше.

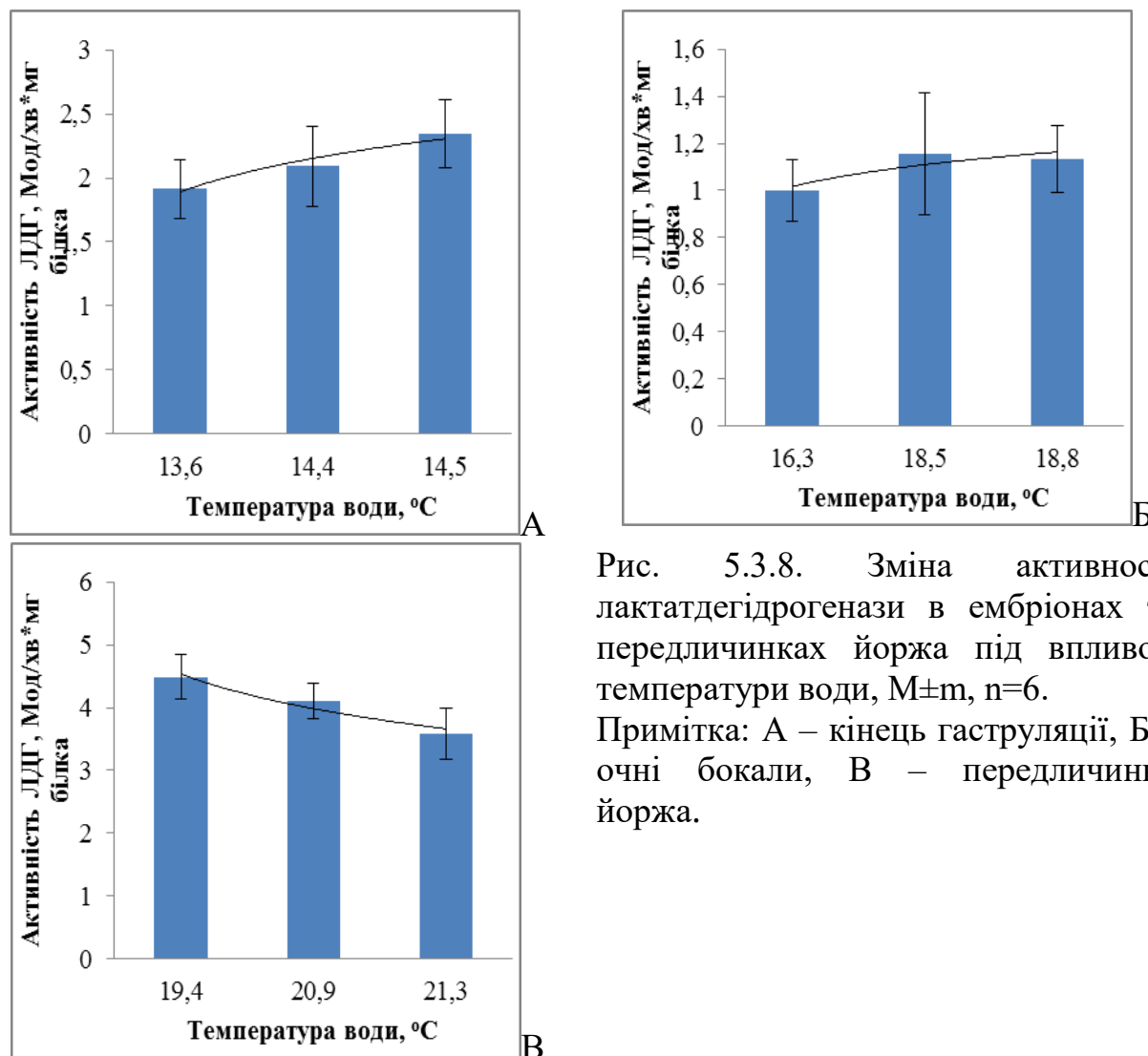


Рис. 5.3.8. Зміна активності лактатдегідрогенази в ембріонах та передличинках йоржа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали, В – передличинки йоржа.

При наступній стадії розвитку – очні бокали, температура води у досліджуваних водоймах продовжувала збільшуватись та досягла 16,3–18,8°C. Слід відмітити, що за цих умов зберігається попередня закономірність: низький рівень активності ферменту та поступовий її ріст з підвищенням температури води. Мінімальну активність ЛДГ спостерігали при температурі 16,3°C – 1,00 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальну – при 18,5°C – 1,16 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 13,8% більше.

В подальшому температура в досліджуваних водоймах продовжувала збільшуватись та при вилупленні передличинок досягла 19,4–21,3°C. На рис. 5.3.8. добре видно, що на цій стадії при збільшенні температури води активність ЛДГ в ембріональних тканинах знижується. Це вказує на більш оптимальний розвиток передличинок йоржа при вищих температурах (21°C) та при концентрації розчиненого кисню більш 5,0 мг/дм³, ніж це було на попередніх етапах розвитку. Максимальну активність було зафіксовано при температурі 19,4°C – 4,48 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а мінімальну – при 21,3°C – 3,58 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 20,1% менше.

Аналізуючи результати власних досліджень активності ЛДГ в ембріонах та предличинках йоржа можна помітити, що йорж під час раннього ембріогенезу має широкий діапазон температур, за яких він розвивається в межах норми. Проте оптимальною температурою для ембріогенезу в середині оболонки йоржа є температури 14–18°C, а для передличинок – 21°C.

5.4. Зміна активності протеаз в ембріонах риб за дії різного температурного та кисневого режимів водойми

Протеази гідролізують пептидні зв'язки в білках та пептидах. Визначення активності протеаз на ембріональних стадіях розвитку за дії екологічних чинників водного середовища особливо важливо, оскільки саме на цих етапах відбувається суттєві перетворення у риб, створюються нові тканини та органи. Збільшення або зменшення активності протеаз також в значній мірі пов'язано з фізіологічними змінами ембріонів та личинок в період метаморфозу [172].

Білий товстолобик. Ембріональний розвиток білого товстолобика триває 32–36 год., за цей короткий час відбуваються необхідні процеси органогенезу та метаморфозу зародків, тому активність протеолітичних ферментів постійно змінюється залежно від етапів розвитку ембріонів. За змінами активності протеаз також можна визначати стан організму риб залежно від коливань абіотичних чинників у водоймах.

На початкових стадіях розвитку білого товстолобика (кінець гастрюляції) відмічено, в якому діапазоні температур найкраще розвивається ембріон. Для цієї стадії найкращою є температура води 24–25°C (рис. 5.4.1). Максимальна активність ферменту була при температурі 25°C – 5,04 ум.од./мг білка×год., далі з підвищенням температури активність дещо знижувалася на 13% до 4,37 ум.од./мг білка×год., але залишалася на високому рівні. Активність протеаз залишалася на високому рівні навіть при високих температурах – 32°C (4,27 ум.од./мг білка×год.). Це пояснюється тим, що ці стадії розвитку проходили в денні години та за достатнього насичення води киснем (5,0–6,3 мг/дм³).

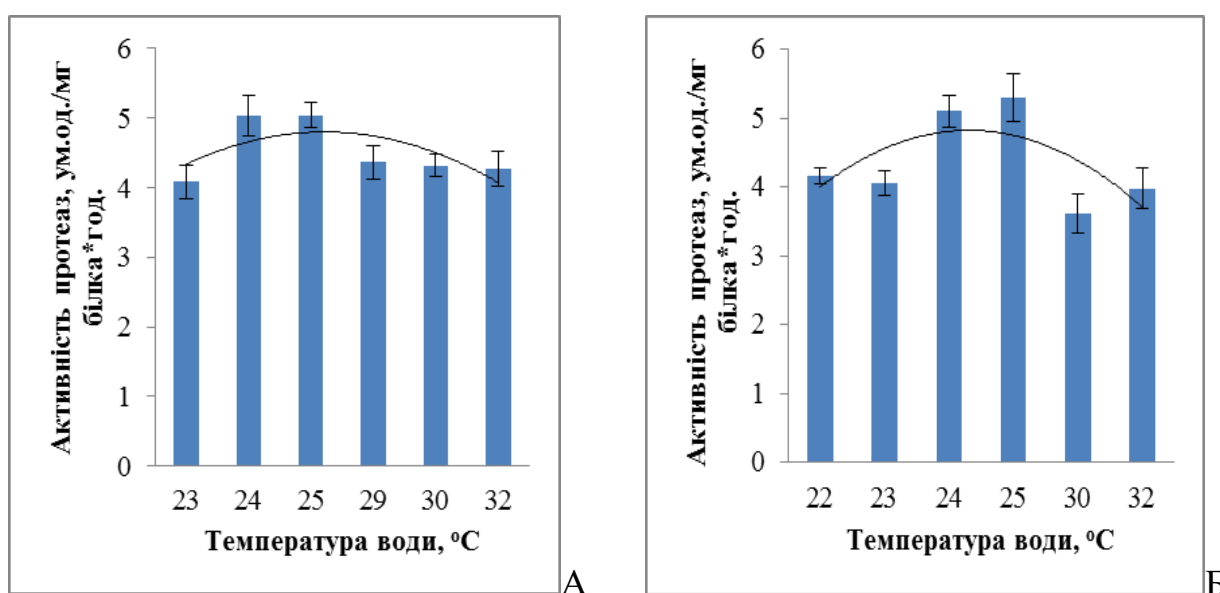


Рис. 5.4.1. Зміна активності протеаз в ембріонах білого товстолобика під впливом температури води, М±m, n=6.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали.

На стадії очні бокали зберігається подібна закономірність, як і на попередній стадії розвитку. Активність ферменту перебувала на високому рівні в усьому діапазоні температур 22°C–32°C від 4,17 до 3,98 ум.од./мг білка×год. відповідно. Максимальну активність було зафіксовано при температурі 25°C – 5,31 ум.од./мг білка×год.. З подальшим підвищенням температури активність протеаз поступово знижувалася та при температурі 32°C становила 3,98 ум.од./мг білка×год.

Таким чином, активність протеаз вказує, що особливості фізіологічного стану ембріонів можна визначити за цим показником та встановлювати чи

знаходяться вони в оптимальних межах абіотичних чинників, чи ні. Встановлено, що під час ембріонального розвитку білого товстолобика активність ферменту перебувала на високому рівні. Це свідчить про те, що в інтервалі температур, коли відбувається аномальний розвиток ембріонів, вище ніж 29°C, активність протеаз істотно не знижується. Оптимальними температурами для ембріонального розвитку цього виду риб був їх діапазон 24–25°C.

Білий амур. Активність протеаз також чітко вказує на характеристики фізіологічного стану ембріонів білого амура залежно від умов середовища. Дуже добре прослідковується пряма залежність між активністю ферментів та температурою води, з її збільшенням активність протеаз зростає (рис. 5.4.2). Мінімальну активність ферменту було зафіксовано при температурі води 21°C – 4,26 ум.од./мг білка×год., а максимальну – при 29°C – в 2,4 рази більше (10,23 ум.од./мг білка×год.).

Було встановлено кореляційну залежність між температурою води та активністю протеаз в ембріонах білого амура на стадії кінець гастрюляції (рис. 5.4.3.). Зі збільшенням температури відбувається пропорційне збільшення активності ферменту.

На наступній стадії розвитку (очні бокали) загальна активність ферменту дещо знижувалася порівняно з попередньою стадією розвитку – на 23% при температурі 21°C та на 60,8% при 29°C (див. рис. 5.4.2). Проте, не дивлячись на це, загальна закономірність змін активності ферменту від температури води зберігається. Максимальну активність протеаз було зафіксовано при температурі 28°C – 3,98 ум.од./мг білка×год.

Таким чином, для білого амура на початкових стадіях розвитку характерна висока активність протеаз від 4,26 ум.од./мг білка×год. При температурі 21°C до 10,23 ум.од./мг білка×год. Однією з причин подальшого аномального розвитку ембріонів за високих температур води може бути надмірна активність ферментів на стадії кінець гастрюляції. На наступних етапах розвитку активність знижувалася на 23–60,8% та знаходилася в доволі

вужьких межах від 3,2 до 3,98 ум.од./мг білка×год. при всіх досліджуваних температурах води. Це свідчить про те, що ембріони білого амура на цьому етапі розвитку добре пристосовуються до всього діапазону досліджуваних температур. Зі всього об'єму даних можна стверджувати, що температура води 24–28°C є найкращою для ембріонального розвитку білого амура, але при наявності достатньої кількості розчиненого кисню.

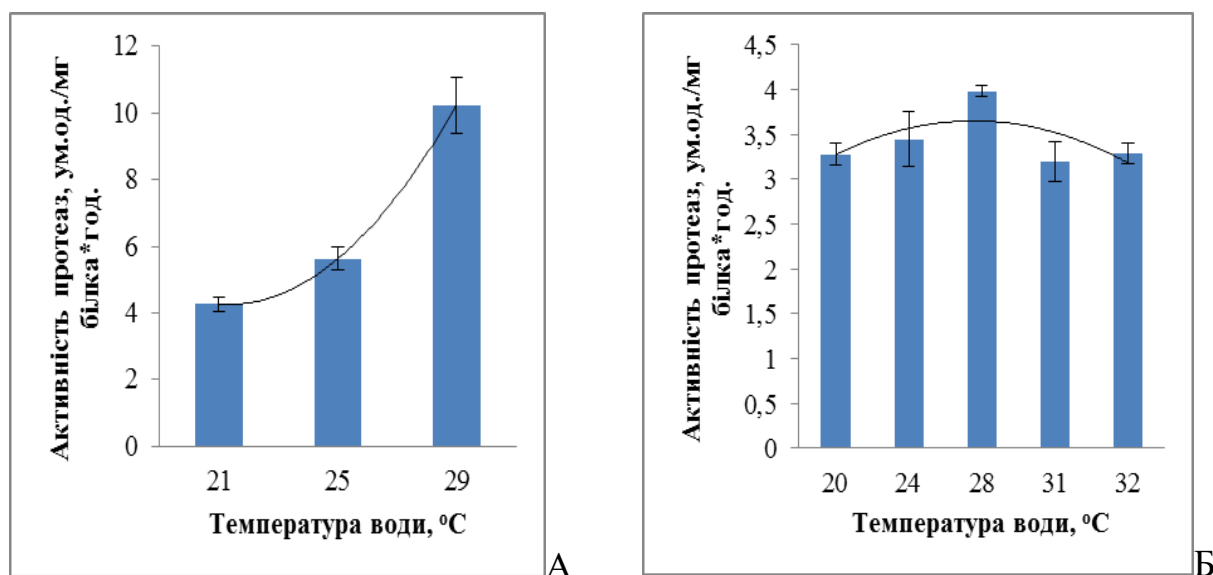


Рис. 5.4.2. Зміна активності протеаз в ембріонах білого амура під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – кінець гастрюляції, Б – очні бокали.

Короп. Також активність протеаз було досліджено і в ембріонах коропа. Для цього виду риб було встановлено, що на початкових стадіях розвитку з підвищенням температури води активність ферменту зростає з 8,59 ум.од./мг білка×год. при температурі 23°C до 11,56 ум.од./мг білка×год. при 26°C (рис. 5.4.4). Проте, з подальшим підвищенням температури до 27°C активність протеаз знижувалася до 10,43 ум.од./мг білка×год., що на 9,7% нижче.

Саме до температури 26°C за умови достатнього насичення води розчинним киснем (5,0–7,2 мг/дм³) ембріони коропа на цій стадії розвитку нормально розвивалися, що підтверджується високим рівнем активності протеаз.

Подібна закономірність зберігалася і на наступній стадії розвитку – рухливий ембріон. Максимальну активність ферменту було зафіксовано при

температурі 28°C – 10,84 ум.од./мг білка×год. за достатнього насичення води киснем (5,0–6,3 мг/дм³). Проте вже при 31°C активність протеаз була мінімальною – 7,34 ум.од./мг білка×год. Це свідчить про те, що ембріони коропа при температурі оточуючого середовища вище 28°C максимально задіюють свої резерви для адаптації до стресових умов, а з перевищенням цієї температурної межі можливості протидіяти чиннику вичерпані. Це підтверджується утворенням великої кількості аномальних та нежиттєздатних зародків.

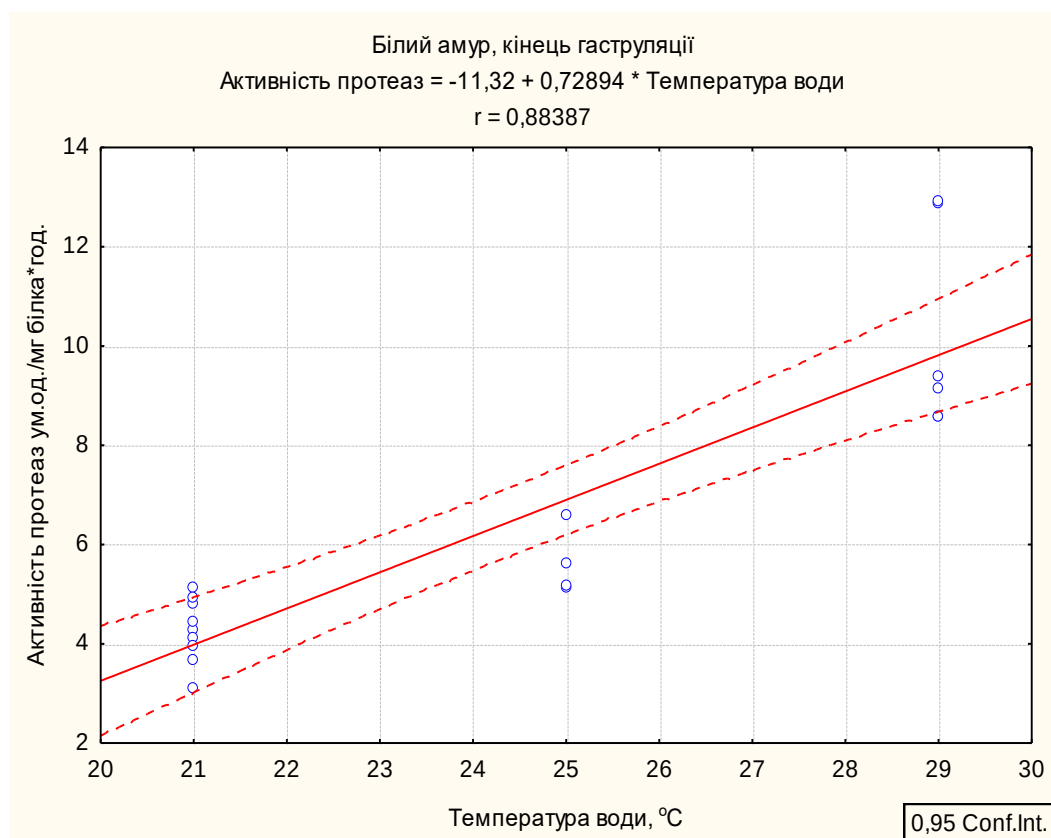


Рис. 5.4.3. Кореляційна залежність між температурою води та активністю протеаз в ікрі білого амура на стадії кінець гастрюляції.

На стадії пігментація очей зберігається подібна закономірність, як і на попередніх стадіях ембріонального розвитку, але дещо звужуються межі оптимуму. Максимальну активність ферменту було зафіксовано при температурі 24°C – 11,07 ум.од./мг білка×год., а мінімальну – при 29°C на 17,6% менше (9,12 ум.од./мг білка×год.).

Аналізуючи дані щодо активності протеаз протягом всього ембріогенезу, дійти наступних висновків: протягом всього ембріогенезу в досліджуваному діапазоні температур активність протеаз ембріонів коропа знаходилася на високому рівні. Це свідчить про те, що ембріони коропа можуть розвиватися в широкому діапазоні температур. Характерним є те, що для кожної стадії оптимальна температура постійно змінюється. На початкових стадіях розвитку це більш високі величини – 25–26°C, а для більш пізніх стадій розвитку та безпосередньо перед вилупленням передличинок – 23–24°C.

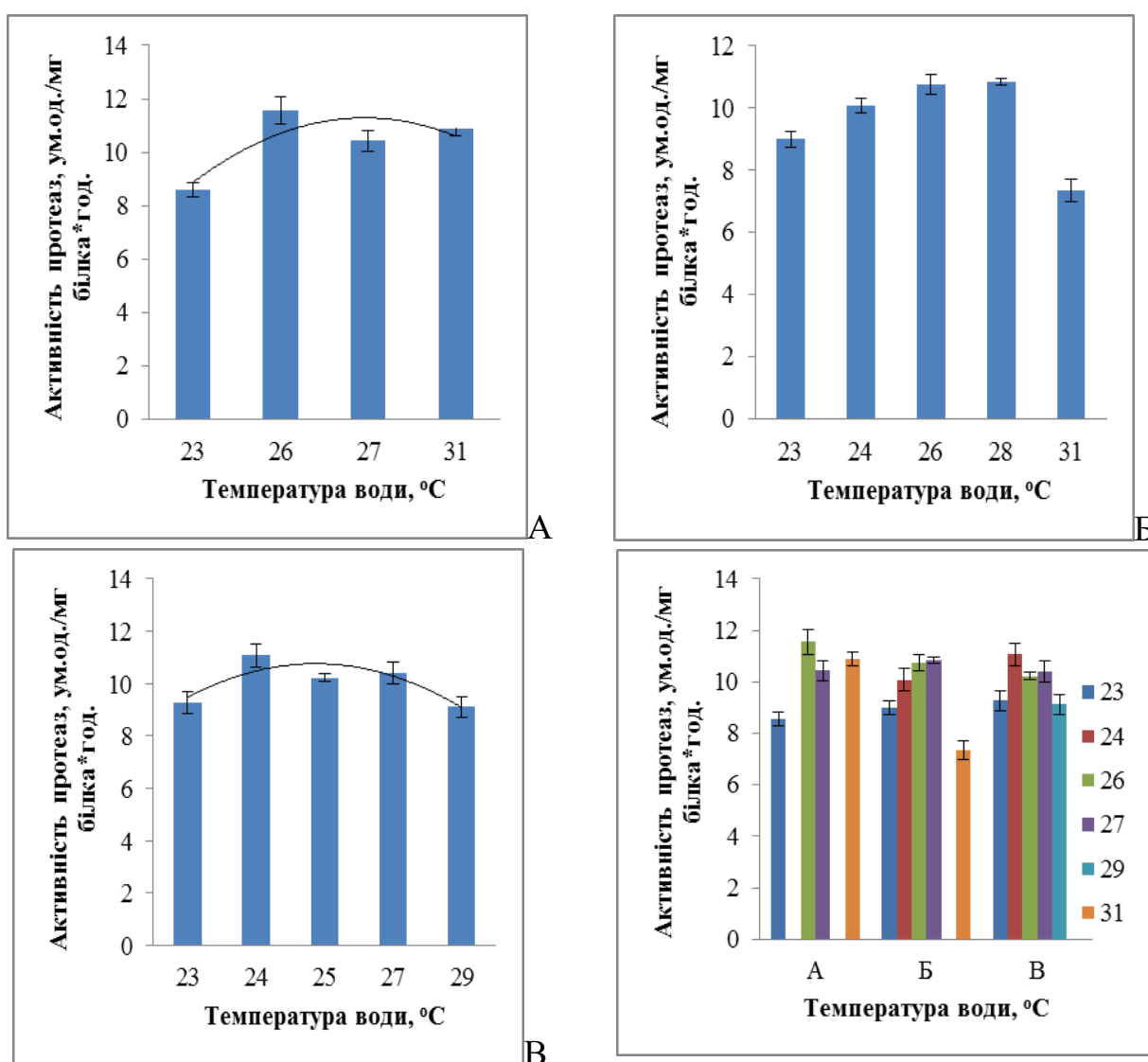


Рис. 5.4.4. Зміна активності протеаз в ембріонах коропа під впливом температури води, $M \pm m$, $n=6$.

Примітка: А – стадія відділення хвоста, Б – рухливий ембріон, В – пігментація очей.

Отже, результати наших досліджень по активності ключових ферментів енергетичного та пластичного обміну показали, що з підвищенням температури водного середовища вище за норму зменшувалась активність Na^+/K^+ -АТФ-ази, що зумовлено послабленням окисно-відновних та посиленням анаеробних процесів за низького вмісту кисню у воді. Особливо відчутне зниження активності ферменту у ікрі коропа встановлено за температури води 30°C при добовому її коливанні $2\text{--}3^\circ\text{C}$. Характерною особливістю для цього виду риб є те, що на всіх стадіях розвитку активність ферменту найбільша при температурі 22°C та інколи досягає свого максимуму. При зростанні температури води вона значно падає й досягає мінімуму при 26°C . Далі з наступним збільшенням температури активність знову зростає, що відбувається через розвиток адаптивних реакцій до несприятливих чинників за рахунок збільшення обмінних процесів між зовнішнім та внутрішнім для ембріонів середовищем.

Протягом всього ембріонального розвитку коропа під час підвищення температури за межі оптимальної рівень активності СДГ знижується. Нетипове підвищення температури води в період нересту риб в природних умовах на тлі зниження вмісту кисню у воді істотно впливає на активність СДГ у ембріональних тканинах [157, 158, 169]. На третій та четвертий день розвитку личинок коропа активність СДГ стрімко збільшується при збільшенні температури оточуючого середовища, чого не було помітно в перші два дні, де була відмічена зворотна залежність. Вірогідно, це вказує на те, що передличинки коропа після перших двох діб життя змогли більш ефективно адаптуватися до більш високих температур – $27\text{--}28^\circ\text{C}$ і навіть до 29°C , на що вказує стабільно висока активність СДГ.

Активність лактатдегідрогенази протягом всього ембріогенезу коропа також чітко реагувала на зміну умов середовища та залежала від стадії розвитку зародків. Оптимальною температурою для нормального розвитку ембріонів коропа за величиною цього показника можна вважати $22\text{--}24^\circ\text{C}$, при подальшому підвищенні ембріони коропа продовжують розвиватись, але з більшою кількістю їх аномалій та зі зменшенням життєздатності.

Оптимальними температурами для розвитку личинок коропа можна вважати її діапазон від 22 до 27°C.

Протягом всього ембріогенезу коропа в досліджуваному діапазоні температур активність протеаз ембріонів знаходилася на високому рівні. Це свідчить про те, що ембріони цього виду риб продовжують розвиватися в широкому діапазоні температур. Характерним є те, що для кожної стадії розвитку оптимальна температура постійно змінюється. На початкових стадіях розвитку це можуть бути більш високі значення температури – 25–26°C, для більш пізніх стадій розвитку та безпосередньо перед вилупленням передличинок – 23–24°C.

Підсумовуючи отримані результати, можна стверджувати, що при перевищенні сприятливих температур в ембріонах коропа змінюється спрямованість їх енергетичного обміну з аеробного на анаеробний. При температурному режимі вище за 26°C та зниженні концентрації розчиненого кисню нижче за 5,0 мг/дм³ на природних нерестовищах ефективність відтворення риб знижується.

За активністю Na⁺,K⁺-АТФ-ази найбільш оптимальною температурою для розвитку ембріонів білого амура та білого товстолобика можна вважати таку, що не перевищує 25,0°C. Саме за такою температурою спостерігався активний обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем для зародків, а активність АТФ-ази знаходилася на високому рівні порівняно з іншими температурними режимами. Важливо відзначити, що під час проведення досліджень при температурі 25,0°C у водоймах створилися задовільні кисневі умови (вище за 5,0 мг О/дм³), чого не спостерігалось при перевищенні температурного оптимуму. При досить високому температурному режимі, вище за 28,0°C, найчастіше був помічений аномальний розвиток ембріонів.

Отримні дані з активності СДГ в ембріонах білого товстолобика вказують, що для нормального його ембріонального розвитку найбільш сприятливою є температура 24–25°C. За активністю ЛДГ добре помітна реакція ембріонів на стадії очні бокали у рослиноїдних риб на зниження в передранкові

години рівня насичення води киснем до $3,5 \text{ мг/дм}^3$ при 29°C активується гліколіз. Проте активність СДГ протягом всього ембріогенезу білого амура залишається на високому рівні. Найвища її величина була при температурах на нижче оптимуму.

Для білого амура на початкових стадіях розвитку характерна висока активність протеаз від $4,26 \text{ ум.од./мг білка} \times \text{год.}$ при 21°C до $10,23 \text{ ум.од./мг білка} \times \text{год.}$ (29°C). Однією з причин аномального розвитку ембріонів за високих температур води може бути надмірна активність ферментів, зокрема на стадії кінець гастрюляції. На наступних етапах розвитку активність протеаз знижувалася на 23–60,8% та знаходилася в доволі вузьких межах від 3,2 до $3,98 \text{ ум.од./мг білка} \times \text{год.}$ при всіх досліджуваних температурах води. Це свідчить про те, що ембріони білого амура на цьому етапі розвитку починають пристосовуватися до надмірної температури. З всього об'єму отриманих даних можна стверджувати, що температура води $24\text{--}28^\circ\text{C}$ є найкращою для ембріонального розвитку білого амура, але за умов наявності достатньої кількості розчиненого кисню.

Оскільки, ембріональний розвиток окуня відбувається при відносно низьких температурах, то протягом всіх досліджень ми не спостерігали жодних проблем з кисневим режимом, його концентрація була в межах $5,0\text{--}11,6 \text{ мг/дм}^3$. За активністю Na^+/K^+ -АТФази для ембріонів окуня чітко видно, що найбільш сприятливими температурами для ембріонального розвитку є нижні її величини, зокрема для стадії пігментація очей це $14,9^\circ\text{C}$. Після вилуплення на стадії передличинки максимальну активність ферменту було відмічено при температурі $16,3^\circ\text{C}$. Дані власних досліджень зміни активності СДГ у ембріонів за коливаннями температури оточуючого середовища свідчать про те, що для нормального ембріонального та постембріонального розвитку окуня оптимальними температурами води є $9\text{--}11^\circ\text{C}$. Проте, навіть при підвищенні температури до $15\text{--}16^\circ\text{C}$ ембріони та личинки добре пристосовуються.

За даними власних досліджень показано, що на ранніх стадіях ембріонального розвитку (кінець гастрюляції та очні бокали) спостерігалася

максимальна активність ЛДГ у зародках окуня при мінімальних температурах з усього дослідженого діапазону. За цих умов для нормального ембріогенезу активно використовувався гліколіз. Вже на наступній стадії розвитку при істотному підвищенні температури води активність ЛДГ була найменшою при мінімальних температурах (14,9°C), що свідчить про те, що вона є найбільш оптимальною для органогенезу ембріонів окуня. Подібну картину ми бачимо й в процесі формування передличинок. Це вказує на те, що для ембріонального та постембріонального розвитку окуня діапазон температур 14,5–16°C є прийнятним. При цих температурах ембріони та личинки добре ростуть. Проте оптимальною температурою для цього виду все ж є її діапазон 9–11°C.

За активністю ключових ферментів Na^+, K^+ -АТФази, ЛДГ та СДГ також можна стверджувати, що для нормального ембріонального розвитку йоржа оптимальними температурами є її діапазон в межах 14–18°C, а раннього постембріонального – 19–21°C.

Плітка більш теплолюбивий вид риб порівняно з окунем, для неї характерні значно вищі температури води під час ембріонального розвитку. Відмічено, що активність АТФ-ази істотно зростала з підвищенням температури води. Це може свідчити про високу пристосованість плітки до температурного режиму водойм як при кліматичних нормах, так і дещо переважаючих цю норму. Найкращою температурою для ембріонального розвитку плітки є 16–17°C, а на стадії передличинки її оптимум зростав до 20–21°C [173, 222, 223].

Активність СДГ в ембріональних тканинах плітки чутливо реагує на зміну умов середовища, в першу чергу, на температурний режим. За цим показником можна стверджувати, що для ембріонального розвитку в середині оболонки оптимальними температурами є 15–16°C, а для стадії передличинки – менше 20°C. Переважання оптимальної температури може негативно позначитися на ембріональному розвитку цього виду риб.

Підвищення активності ЛДГ в тканинах передличинок плітки вказує на несприятливі для неї умов середовища. Так, під час розвитку передличинок рівень розчиненого кисню у воді на нерестовищах знижувався до 3,2–3,7

мг/дм³. Низьку його концентрацію було відмічено лише в передранкові години, а після 8 год. ранку оптимальний рівень кисню поступово відновлювався. Проте навіть такий короточасний дефіцит кисню у воді вплинув на протікання метаболічних процесів в передличинках плітки, змістивши його в сторону анаеробного енергозабезпечення. Мінімальна активність ЛДГ була при температурі 19,6°C та становила 28,18 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальна – при 20,9°C – 32,3 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 14,6% більше. Таким чином, дані з активності ЛДГ підтверджують, що температура в межах 16–17°C є найбільш оптимальною для нормального ембріонального розвитку плітки.

Отже, нами встановлено, що за активністю ключових ферментів в ембріонах риб можна судити про негативну дію температурних умов та вмісту розчиненого кисню у воді. При надлишковому за кліматичною нормою, особливо в період їх нересту, перегріві води може суттєво знижуватися ефективність відтворення риб. Останнім часом саме це відбувається у водоймах України, коли після прохолодної весни протягом березня та квітня у травні починається значне зростання температури повітря і води, яке перевищує існуючу кліматичну норму. Саме в цей період відбувається нерест переважної більшості промислово-цінних видів риб.

За результатами проведених досліджень можна стверджувати, що активність ЛДГ та СДГ та їх співвідношення у ембріональних тканинах личинок є показовими індикаторами впливу екологічних умов середовища на ембріональний розвиток риб. Саме ці ферменти своєчасно та адекватно реагують на найменші зміни температурного та кисневого чинників, що дає нам можливість оцінити сприятливі умови існування. При підвищенні температури води вище за кліматичну норму змінюється співвідношення СДГ/ЛДГ в бік збільшення лактатдегідрогеназної і зменшення сукцинатдегідрогеназної активності. Це, в свою чергу, свідчить про перехід енергетичного обміну у зародків з окисно-відновних процесів на анаеробні.

Визначення активності протеаз в ході ембріонального розвитку за дії екологічних чинників водного середовища особливо важливо, оскільки саме на цих етапах відбувається суттєві перетворення у риб, створюються нові тканини та органи. Збільшення або зменшення активності протеаз також, в значній мірі пов'язано з фізіологічними змінами ембріонів та личинок в період метаморфозу [172].

РОЗДІЛ 6 УЗАГАЛЬНЕННЯ

У багатьох роботах відзначено вплив на організм риб навіть незначних флуктуацій температури водного середовища та вмісту розчиненого кисню у воді [6, 9, 11, 20, 27]. Температура завдає істотний вплив на всі рівні структурної організації водних організмів від організмового до клітинного [4, 19, 20, 21, 22, 40, 122]. Відомо, що зміни температури чинять істотний вплив на швидкість протікання метаболічних реакцій і загальну інтенсивність обміну. Підвищення температури в толерантному діапазоні призводить до посилення інтенсивності обміну, а зниження температури – до його зниження [3]. Між тим основні обмінні процеси в організмі повинні підтримуватися на певному рівні, котрий може змінюватися лише у доволі вузьких межах, інакше настає порушення гомеостазу, яке викликає загибель організму [198].

Низка авторів Вербіцький В.Б., Заар Э.И., Дгебуадзе Ю.Ю., Продан С.Е., Константинов А.С., Schneider J.C. та ін. [7, 9, 10, 17, 24, 48, 51, 59], вказують, що для нормального протікання обмінних процесів важливі як рівень змін температур, так і швидкість їх перемін. Різде зниження температури може призвести до такого сповільнення метаболічних процесів, яке вже не може забезпечити нормальний хід процесів життєдіяльності. Протилежне значне підвищення температури може викликати таке зростання інтенсивності обмінних процесів, які важко або неможливо забезпечити киснем. Тому у пойкилотермних тварин є механізми контролю інтенсивності обмінних процесів, і, в першу чергу, за рахунок ферментативної регуляції [218–220].

За результатами власних досліджень встановлено, що при зміні температурного режиму істотно змінюється швидкість ембріональних стадій риб, зокрема коропа та рослиноїдних риб. При коливанні температури води протягом доби та під час всього ембріогенезу на нерестовищах, не дивлячись на те, що загальна сума тепла була вищою, ніж у стабільних умовах, уповільнюється швидкість ембріональних стадій розвитку досліджених видів риб [50, 221]. Затримка розвитку ікри коропа за цих умов була 20–24 год.

Навіть не суттєва середньодобова різниця температури у $0,5\text{--}0,8^{\circ}\text{C}$ між досліджуваними водоймами призводить до істотного уповільнення ембріогенезу рослиноїдних риб на 4–6 год. При цьому за стабільної температури в діапазоні $23\text{--}25^{\circ}\text{C}$ ембріональний розвиток продовжувався 32–36 год. В найбільш прогрітій водоймі (температура води вище за 28°C) та при зниженні концентрації розчиненого кисню нижче за $5,0\text{ мг/дм}^3$ спостерігалось підвищення кількості аномальних зародків.

Нами відмічено істотну різницю за довжиною та масою передличинок коропа з водойм, які характеризувалися різним температурним режимом. Так, при температурі води $21,4^{\circ}\text{C}$ середня довжина личинок була 7,4 мм, а маса 1,2 мг. Для цих личинок характерним є більш швидке проходження ембріональних стадій розвитку. В найбільш прохолодній водоймі ($20,6^{\circ}\text{C}$) середня довжина передличинок досягала 9,4 мм, а маса 1,5 мг, а ембріональний розвиток продовжувався 89 год.

На ранніх стадіях ембріогенезу (дрібноклітинна морула, кінець гастрюляції) залежно від різних умов середовища кількість мікроядер в усіх досліджуваних видів риб не перевищували межі норми (1–2) [180, 200, 205, 206, 222, 223]. Це можна пояснити тим, що на цих стадіях ще не проявилися негативні наслідки змін у навколишньому середовищі. Цього не спостерігалось на пізніх стадіях ембріогенезу (очні бокали, пігментація зародків) та в личинок, де цей показник чітко реагував на зміни температури води та її насичення киснем.

Дослідження показали, що за впливу екологічних чинників водного середовища на генетичний апарат ембріонів коропа на пізніх стадіях [206] розвитку та личинок, що клітини містять в основному (89%) по два, рідше по одному ядерцю. При максимальних температурах води ($29\text{--}31^{\circ}\text{C}$) та пониженому рівні кисню ($3,8\text{ мг/дм}^3$) кількість мікроядер істотно зростала. Клітини ембріонів коропа з трьома мікроядрами становили 68% при цьому діаметр ядерця зменшувався.

Ембріони коропа можуть вдало адаптуватися до високої температури зовнішнього середовища (до 31°C) [69, 71, 75, 76, 224], але тільки при

достатньому вмісті розчиненого кисню в воді (4,5–5,8 мг/дм³). Мінімальні рівні білка в личинках знаходилися в середній частині діапазону температури води (26,5°C). Як з підвищенням, так і зі зниженням температури оточуючого середовища його вміст поступово збільшувався, досягаючи максимуму при крайніх температурах (22°C та 28°C). Для личинок коропа оптимальним діапазоном температури для постембріонального розвитку було 22–24°C. За цих умов відмічено мінімальну кількість аномально розвинених зародків. При температурі 27–28°C та концентрації кисню у воді більше за 5,0 мг/дм³ також відмічалася висока життєстійкість зародків, але ця температура виявлялася потужним тератогенним чинником для ембріонів коропа та призводила до аномального розвитку ембріонів [69, 71, 75, 76].

Личинки коропа мали більшу адаптивну здатність до змін умов існування порівняно з ембріонами, які знаходилися в середині оболонки. Підтвердженням цьому може слугувати високий вміст глікогену в тканинах без різких його змін протягом чотирьох діб постембріонального розвитку в усьому досліджуваному діапазоні температур. Також було встановлено стабільно високий рівень ліпідів, але найбільшій їх вміст відмічено при температурі 26–27°C, а ця температура є більш оптимальною. Це підтверджується морфологічними дослідженнями ембріонів.

Існування залежності між рівнем метаболізму та ферментативної активності дозволяє охарактеризувати фізіологічний статус риб, а активність ферментів можна вважати молекулярними біомаркерами [195]. До основних молекулярних біомаркерів метаболізму низка авторів відносять: активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази, Ca²⁺, Mg²⁺-АТФази і загальної АТФ-ази, лактатдегідрогенази та сукцинатдегідрогенази [196, 197].

Результати наших досліджень показали, що з підвищенням температури водного середовища вище за норму зменшувалась активність Na⁺, K⁺-АТФази, що зумовлено послабленням окисно-відновних та посиленням анаеробних процесів за низького вмісту кисню у воді. Особливо відчутне зниження активності ферменту у ікрі коропа встановлено за температури води 30°C при

добовому її коливанні 2–3°C. Характерною особливістю для цього виду риб є те, що на всіх стадіях розвитку активність ферменту найбільша при температурі 22°C та інколи досягає свого максимуму. При зростанні температури води вона значно падає й досягає мінімуму при 26°C. Далі з наступним збільшенням температури активність знову зростає, що відбувається через розвиток адаптивних реакцій до несприятливих чинників за рахунок збільшення обмінних процесів між зовнішнім та внутрішнім для ембріонів середовищем.

При підвищенні температури води вище за кліматичну норму змінюється співвідношення СДГ/ЛДГ в бік збільшення лактатдегідрогеназної і зменшення сукцинатдегідрогеназної активності. Це, в свою чергу, свідчить про перехід енергетичного обміну у зародків з окисно-відновних процесів на анаеробні. Відомо, що при температурі води нижче за оптимальну активність метаболічних процесів значно сповільнюється, відбувається генерування енергії за рахунок гліколізу, в якому лактатдегідрогеназа бере безпосередню участь. За рівнем активності цього ферменту можна судити про ступінь та активність гліколітичних процесів [160–162].

Таким чином, за результатами проведених досліджень можна стверджувати, що рівень активності ЛДГ та СДГ та їх співвідношення у ембріональних тканинах личинок є показовими індикаторами впливу екологічних умов середовища на ембріональний розвиток риб. Саме ці ферменти своєчасно та адекватно реагують на найменші зміни температурного та кисневого чинників, що дає нам можливість оцінити сприятливі умови існування.

Основоположним процесом генерування енергії АТФ у вищих тварин є аеробний шлях. Саме сукцинатдегідрогеназа каталізує в циклі Кребса зворотне окиснення бурштинової кислоти до фумарової. Тому активність дегідрогеназ може слугувати індикатором діагностики стану організму при захворюваннях або в несприятливих умовах [156, 157]. Протягом всього ембріонального розвитку коропа під час підвищення температури за межі оптимальної активність СДГ знижується. Нетипове підвищення температури води в період

нересту риб в природних умовах на тлі зниження вмісту кисню у воді істотно впливає на її активність у ембріональних тканинах [157, 158, 169]. На третій та четвертий день розвитку личинок коропа активність СДГ стрімко збільшується при зростанні температури оточуючого середовища, чого не було помітно в перші два дні, де було відмічено зворотну залежність. Очевидно, це вказує на те, що передличинки коропа після перших двох діб життя змогли більш ефективно адаптуватися до високих температур – 27–28°C і навіть до 29°C, на що вказує стабільно висока активність СДГ.

Активність ЛДГ протягом всього ембріогенезу коропа також чітко реагує на зміну умов середовища та залежить від стадії розвитку зародків. Оптимальною температурою для нормального розвитку ембріонів коропа за цим показником можна вважати 22–24°C, при подальшому підвищенні температури ембріони коропа продовжують розвиватись, але з більшою кількістю їх аномалій та зі зменшенням життєздатності. Аналіз результатів досліджень активності ЛДГ за дії температурних та кисневих коливань у воді ще раз показав високу її чутливість цього показника. При найменшому наближенні до порогових рівнів розчиненого кисню або температури активність ферменту відповідно реагувала та підвищувалась. Це можна особливо простежити під час розвитку личинок протягом третьої та четвертої доби, коли з наближенням температури води до 28°C активність ЛДГ значно зростала. Найкращими температурами для розвитку личинок коропа можна вважати її діапазон від 22 до 27°C.

Протягом всього ембріогенезу коропа в досліджуваному діапазоні температур активність протеаз ембріонів знаходилася на високому рівні. Це свідчить про те, що ембріони цього виду риб продовжують розвиватися в широкому діапазоні температур. Характерним є те, що для кожної стадії розвитку оптимальна температура постійно змінюється. На початкових стадіях розвитку це можуть бути більш високі температури – 25–26°C, а для більш пізніх стадій розвитку та безпосередньо перед вилупленням передличинок – 23–24°C.

Підсумовуючи отримані результати можна стверджувати, що при перевищенні кліматичних норм температури в ембріонах коропа змінюється спрямованість їх енергетичного обміну з аеробного на анаеробний. При температурному режимі вище за 26°C та зниженні концентрації розчиненого кисню нижче за 5,0 мг/дм³ на природних нерестовищах ефективність відтворення риб буде знижуватися.

Рослиноїдні риби, зокрема білий амур та білий товстолобик, характеризуються прискореним ембріональним розвитком, а весь ембріогенез в середині оболонки триває протягом 32–36 год [69, 85, 87, 88]. Ікра цих риб розвивається у товщі воді, але не дивлячись на цей факт вони можуть бути запропоновані як показовий тест-об'єкт. Наші дослідження показали, що з більшим прогріванням водоймах ембріональний розвиток прискорюється, але він все ж був сповільнений порівняно зі стабільним температурним режимом в межах 23–25°C. Затримка ембріонального розвитку рослиноїдних риб при коливальному температурному режимі була 4–6 год., що менше ніж у коропа, але і сам ембріогенез рослиноїдних риб тривав не більше 36 год. При затримці розвитку оболонки ікринок частково руйнувалися через передчасне виділення ферментів їх розчинення.

Ікра білого товстолобика та білого амура особливо негативно реагує на передранкове зниження вмісту розчинного кисню у воді менш за 4,0 мг/дм³. Повністю порушувався їх ембріональний розвиток, а кількість аномальних зародків досягав 90%. При зменшенні концентрації кисню у воді нижче за 3,5 мг/дм³ ембріони повністю гинули. При цьому для рослиноїдних риб характерна наявність декількох аномалій одночасно, зокрема викривлення хребта та водянки внутрішніх органів. Для ембріонів цих видів риб тератогенний вплив абіотичних чинників є значним.

В рослиноїдних риб протягом всього розвитку спостерігалась підвищена кількість ядерців в клітині, особливо їх кількість зростала по мірі проходження ембріонального розвитку [205, 206]. На ранніх стадіях розвитку (дрібноклітинна морула та кінець гаструляції) переважали клітини з 2–4

ядерцями (93%), на пізніх етапах розвитку (очні бокали та перед вилупленням), а також в личинок – 4–6 (84%), іноді зустрічалися клітини з 7–8 ядерць (6%).

Для ембріонів білого товстолобика на ранніх етапах оптимальна температура води має більш широкий діапазон (23–28°C), ніж на пізніх стадіях його розвитку (23–25°C). Також, на передодні вилуплення вони потребують значної кількості розчиненого кисню у воді для енергетичного забезпечення метаболічних процесів аеробним шляхом. Саме на пізніх стадіях розвитку починають формуватися нові тканини, органи, системи органів тощо.

Встановлено, що ембріональний розвиток білого амура задовільно проходить і при температурі води до 29°C [65, 69] при достатньому рівні насичення киснем води. Саме при цій температурі ми спостерігали найвищий вміст білків та глікогену. Також, заслуговує на увагу той факт, що під час ембріонального розвитку білого амура при температурі 33°C за умов високого насичення води киснем від 6,5 до 7,4 мг/дм³ цей вид риб почував себе в межах норми. Але при зниженні концентрації розчиненого кисню переважав аномальний розвиток ембріонів. В цьому полягає видова специфічність метаболічних реакцій білого амура порівняно до білого товстолобика та коропа. У білого амура вищі адаптивні можливості до температурного та кисневого режиму водойми, що підтверджується його високою життєздатністю. В личинках білого амура протягом перших трьох діб розвитку характерним є те, що максимальний рівень глікогену був при температурі 22°C, а в четверту добу при цій температурі спостерігали вже його мінімум. Очевидно, для личинок при переході на змішане живлення оптимальна температура дещо збільшилась до 25,5°C.

Коливання вмісту глікогену в ембріонах білого товстолобика протягом всього ембріонального розвитку вказують, що його зародки втрачають велику кількість енергії, спрямованої на адаптацію до зростання температури та відповідно зниження концентрації розчиненого кисню. Оптимальним температурним діапазоном для нормального ембріонального розвитку білого товстолобика можна вважати температуру 25–28°C [69, 85, 88] при достатній

концентрації розчиненого кисню. При погіршенні кисневих умов оптимальною температурою для ембріонів білого товстолобика було 23–25°C.

За вмістом ліпідів оптимальним температурним режимом для розвитку личинок білого товстолобика є 21–26°C, як і для білого амура. Але при температурі 22–24°C кількість аномальних личинок була мінімальною.

За активністю Na^+, K^+ -АТФ-ази найбільш оптимальною температурою для розвитку ембріонів білого амура та білого товстолобика можна вважати таку, що не перевищує 25,0°C. Саме при такій температурі спостерігався активний обмін між зовнішнім та внутрішнім середовищем для зародків, а активність АТФ-ази знаходилася на високому рівні порівняно з іншими температурними режимами. Важливо відзначити, що під час проведення досліджень при температурі 25,0°C у водоймах створилися задовільні кисневі умови (вище за 5,0 мг $\text{O}/\text{дм}^3$), чого не спостерігалось при перевищенні температурного оптимуму. При досить високому температурному режимі (вище за 28,0°C) найчастіше був помічений аномальний розвиток ембріонів.

Отримні дані щодо активності СДГ в ембріонах білого товстолобика вказують, що для нормального його ембріонального розвитку найбільш сприятливою є температура 24–25°C. За активністю ЛДГ добре помітна реакція ембріонів на стадії очних бокалів у рослиноїдних риб на зниження в передранкові години рівня насичення води киснем до 3,5 мг/дм³ при 29°C активується гліколіз. Проте активність СДГ протягом всього ембріогенезу білого амура залишалася на високому рівні. Найвищою вона була при температурах на нижче оптимуму. За цих умов організм втрачав більшу кількість енергії.

Визначення активності протеаз на ході ембріонального розвитку за дії екологічних чинників водного середовища особливо важливо, оскільки саме на цих етапах відбувається суттєві перетворення у риб, створюються нові тканини та органи. Збільшення або зменшення активності протеаз, також, в значній мірі пов'язано з фізіологічними змінами ембріонів та личинок в період метаморфозу [172]. Для білого амура на початкових стадіях розвитку характерна висока

активність протеаз від 4,26 ум.од./мг білка×год. при 21°C до 10,23 ум.од./мг білка×год (29°C). Однією з причин аномального розвитку ембріонів за високих температур води може бути надмірна активність цих ферментів, зокрема на стадії кінець гастрюляції. На наступних етапах розвитку активність протеаз знижувалася на 23–60,8% та знаходилася в доволі вузьких межах від 3,2 до 3,98 ум.од./мг білка×год. при всіх досліджуваних температурах води. Це свідчить про те, що ембріони білого амура на цьому етапі розвитку починають пристосовуватися до надмірної температури. З всього об'єму отриманих даних можна стверджувати, що температура води 24–28°C є найкращою для ембріонального розвитку білого амура, але за наявності достатньої кількості розчиненого кисню.

Як показали наші дослідження, середня кількість мікроядер в клітинах йоржа та окуня протягом всього ембріогенезу становила 1–2 (89% всіх клітин). В личинок також зберігалася подібна тенденція, кількість клітин з 3 або 4 ядерцями не перевищувала 10%. Це можна пояснити тим, що під час проведення досліджень на ембріонах цих видів риб в природних умовах не спостерігалось різких перепадів температур (10–15°C – для окуня та 13–18°C – для йорж), а розчинений кисень завжди був значно вищим за нижню допустиму межу оптимуму для цих видів (6,5–11 мг/дм³), тобто ембріони та личинки не знаходились тривалий час під впливом стрес-чинників абіотичного характеру. Можливо, саме це й було причиною низької кількості пошкоджених хромосом, які в послідуячому формували б мікроядра. Ранні стадії розвитку плітки характеризувалися кількістю мікроядер в клітинах на рівні 2–3 (94% клітин). В другій половині ембріогенезу та в личинок цього виду їх кількість дещо зростала до 4–5 (91%).

Оскільки, ембріогенез окуня відбувався ранньою весною, коли температура на природніх нерестовищах не коливається в широкому діапазоні, тому не було помічено різких коливань рівня білків. За нашими даними можна вважати оптимальною температурою для ембріонального розвитку окуня на рівні 9–11°C [72, 84 89, 111]. Ембріони та передличинки цього виду швидко

реагують на зміну умов оточуючого середовища, зменшуючи синтез нових білків при підвищенні температури [47, 49, 60, 72, 130, 190], навіть при незначному на $0,4-1,0^{\circ}\text{C}$, незважаючи на оптимальну насиченість води киснем. За вмістом глікогену в його ембріонах та передличинках для оптимальною температурою розвитку є $9-14^{\circ}\text{C}$, але з її підвищенням до $16-18^{\circ}\text{C}$ цей вид риб добре пристосовується на личинкових стадіях розвитку.

Вміст ліпідів в зародках окуня не змінювався в діапазоні температури, наближеної до $8,7-11,2^{\circ}\text{C}$. Це є кліматичною нормою для ембріонального розвитку окуня. Проте, вже після вилуплення при зростанні температури води передличинки втрачали більшу кількість запасних ліпідів, причиною цього є прискорений розвиток ембріонів.

Оскільки ембріональний розвиток відбувається при відносно низьких температурах, то протягом всіх досліджень ми не спостерігали жодних проблем з кисневим режимом, його концентрація була в межах $5,0-11,6 \text{ мг/дм}^3$. За активністю Na^+/K^+ -АТФази для ембріонів окуня чітко видно, що найбільш сприятливими температурами для ембріонального розвитку є нижні її величини, зокрема для стадії пігментація очей це 15°C . Після вилуплення на стадії передличинки максимальну активність ферменту було відмічено при температурі $16,3^{\circ}\text{C}$.

Дані власних досліджень щодо зміни активності СДГ у ембріонів за коливаннями температури оточуючого середовища свідчать про те, що для проходження нормального ембріонального та постембріонального розвитку окуня оптимальними температурами води є $9-11^{\circ}\text{C}$, проте навіть при підвищенні до $15-16^{\circ}\text{C}$ ембріони та личинки добре адаптуються.

На ранніх стадіях ембріонального розвитку (кінець гастрюляції та очні бокали) спостерігалася максимальна активність ЛДГ у зародках окуня при мінімальних температурах впродовж усього досліджуваного діапазону. За цих умов для нормального ембріогенезу активно застосовувався гліколіз. Вже на наступній стадії розвитку при істотному підвищенні температури води активність ЛДГ була найменшою при мінімальних температурах ($14,9^{\circ}\text{C}$), що

свідчить про те що вона є найбільш оптимальною для органогенезу ембріонів окуня. Подібну картину ми бачимо й в процесі формування передличинок. Це вказує на те, що для ембріонального та постембріонального розвитку окуня діапазон температур 14,5–16°C є прийнятним. При цих температурах ембріони та личинки добре ростуть та розвиваються. Проте оптимальною температурою для цього виду все ж є діапазон температур 9–11°C.

За вмістом білку у зародках йоржа видно, що найбільш оптимальним діапазоном температур для його ембріонального розвитку було 14–16°C [84]. Проте, вже на стадії передличинки оптимальний температурний режим зростав до 20°C. Важливим показником адаптивних можливостей ембріонів риб до зміни умов середовища є рівень ліпідів в організмі. Під час ембріогенезу йоржа за вмістом ліпідів зародки швидко реагували на зміну умов середовища, та цей показник відображав сприятливі температури для розвитку організму. В заплідненій ікрі містилось 98,98 мг/г ліпідів при 9,2°C. Вже на стадії кінець гастрюляції максимальний їх вміст 93,2 мг/г було зафіксовано при 13,6°C, а мінімальний – 60,6 мг/г при 14,5°C, що на 35% менше. На наступній стадії розвитку (очні бокали) у водоймах відбулось значне підвищення температури води на 2,5–4,3°C, що, в свою чергу, суттєво вплинуло на рівень ліпідів у тканинах. При перевищенні кліматичної норми ембріони та личинки йоржа втрачали значна кількість ліпідів, які використовувалися на забезпечення адаптаційних процесів до діючого чинника та на прискорення їх розвитку. За цим показником ембріональний розвиток йоржа більш сприятливо проходить при 15–16°C, проте вже на стадії передличинок температурний оптимум зростав і становив 19–21°C.

За активністю ключових ферментів Na^+/K^+ -АТФази, ЛДГ та СДГ також можна стверджувати, що для нормального ембріонального розвитку йоржа оптимальними температурами є діапазон в межах 14–18°C, а раннього постембріонального – 19–21°C.

Для ембріонів плітки відмічено, що в температурному діапазоні 14,4–16,9°C синтез нових білків та утілізація запасних білків стабільний без істотних

відмінностей, що свідчить про оптимальну температуру для ембріонального розвитку плітки [173, 222, 223]. З подальшим підвищенням температури оточуючого середовища до 18,5°C ми спостерігали різке збільшення вмісту білків. Це може свідчити про прискорення розвитку ембріонів та синтезу необхідних білків, ембріони швидко пристосовувалися до нових умов існування. Про це свідчить і той факт, що вже на стадії передличинки плітки цілком нормально витримувала діапазон температур від 19°C до 21°C без збільшення відсотку аномалій їх розвитку, але за умови достатнього насичення води киснем.

Вміст ліпідів в ембріонах плітки також залежав від температури води. Найбільший їх рівень на різних стадіях ембріонального розвитку спостерігався при температурі 15–17°C. За межами даного величина цього показника зменшувалася. Проте, вже на стадії передличинки рівень оптимальних температур різко збільшувалася до 19°C.

Плітка більш теплолюбивий вид риб порівняно з окунем, для неї характерні значно вищі температури води під час ембріонального розвитку. Відмічено, що активність АТФ-ази істотно зростає з підвищенням температури води. Це може свідчити про добру пристосованість плітки до температурного режиму водойм як при кліматичних нормах, так і дещо переважаючих цю норму. Найкращою температурою для ембріонального розвитку плітки є 16–17°C, а на стадії передличинки її оптимум зростає до 20–21°C [173, 222, 223].

Активність СДГ в ембріональних тканинах плітки швидко реагує на зміну умов середовища, в першу чергу, на температурний режим. За цим показником можна стверджувати, що для ембріонального розвитку в середині оболонки оптимальними температурами є 15–16°C, а для стадії передличинки – менше 20°C. Переважання оптимальної температури може негативно позначитися на ембріональному розвитку цього виду риб.

Підвищення активності ЛДГ в тканинах передличинок плітки вказує на несприятливі для неї умови середовища. Так, під час розвитку передличинок рівень розчиненого кисню у воді на нерестовищах знижувався до 3,2–3,7

мг/дм³. Низька його концентрація була відмічена лише в передранкові години, а після 8 год. ранку оптимальний рівень кисню поступово відновлювався. Проте, навіть такий короточасний дефіцит кисню у воді вплинув на метаболічні процеси в передличинках плітки, змістивши його в сторону анаеробного шляху генерування енергії. Мінімальна активність ЛДГ була при 19,6°C та становила – 28,18 мМоль НАДН/хв.×мг білка, а максимальна – при 20,9°C – 32,3 мМоль НАДН/хв.×мг білка, що на 14,6% більше. Таким чином, активність ЛДГ підтверджує те, що температура води в межах 16–17°C є найбільш оптимальною для нормального ембріонального розвитку плітки.

Таким чином, нами встановлено, що за активністю ключових ферментів в ембріонах риб можна судити про негативні дії температурних умов та вмісту розчиненого кисню у воді. При надлишковому за кліматичною нормою, особливо в період їх нересту, перегріві води може суттєво знижуватися ефективність відтворення риб. Останнім часом у водоймах України після прохолодної весни протягом березня та квітня у травні починається значне зростання температури повітря і води, яке перевищує існуючу кліматичну норму. Саме в цей період відбувається нерест переважної більшості промислово-цінних видів риб.

ВИСНОВКИ

В природних умовах досліджені морфологічна, цитологічна, фізіологічна та біохімічна реакція ембріонів та личинок коропових і окуневих риб в різних екологічних умовах. Встановлено основні закономірності фізіолого-біохімічного стану ембріонів за дії коливання та підвищення температури води і зниження концентрації розчиненого кисню. За результатами досліджень можна сформулювати наступні висновки:

1. Коливання температури води на 2–5°C, тривале перебування її на критично високому рівні (28°C для коропа, 29–32°C для білого товстолобика та білого амура) та зниження концентрації розчиненого кисню (3,5–4,2 мг/дм³) викликають продовження тривалості ембріонального розвитку ікри.

2. Зростання температури води на 2°C призводить до зменшення маси та довжини личинок коропа, які зазнавали дії цього чинника протягом всього ембріонального розвитку, на 27,0 та 25,0% відповідно.

3. Значні коливання температури води протягом ембріонального розвитку риб, перевищення оптимального рівня, зниження концентрації кисню є потужними тератогенними чинниками. За цих умов формуються аномальні передличинки різних видів риб, яких може досягати 82%. Аномалії проявляються у викривленні хребта, зменшенні чисельності міомерів, водянці внутрішніх органів та зміні форми жовткового міхура.

4. При зростанні температури води вище 26°C, її коливанні протягом доби та зниженні концентрації кисню в ембріонах на пізніх стадіях розвитку та передличинках збільшується середня кількість мікроядер у клітинах на 4,3–35,4% для коропа, на 3,8–14,5% для білого амура, на 5,1–25,1% для білого товстолобика.

5. Перевищення оптимуму температури води та зниження концентрації кисню викликає істотне зменшення активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази у ембріонів коропових (в 2,5 рази) та окуневих риб (на 47%), що свідчить про

пригнічення рівня обмінних процесів та транспорту між зовнішнім для ембріонів та їх внутрішнім середовищем.

6. При підвищенні температури та зниженні концентрації кисню у воді в зародках всіх досліджених видів риб зростає активність ЛДГ (в 1,7–1,9 рази), використовується більша кількість запасних енергоємних речовин, що свідчить про активне застосування гліколізу для підтримки енергетичного балансу.

7. В несприятливих для ембріонального розвитку риб температурних та кисневих умовах знижується активність СДГ у тканинах (в 2,6–5,5 разів), що свідчить про пригнічення аеробних процесів енергетичного забезпечення та може негативно позначитися на фізіологічному стані зародків та суттєво знизити життєздатність личинок.

8. Активність протеаз в ембріональних тканинах максимальна при оптимальній температурі води, що свідчить про високу активність білкового обміну, яка дозволяє зародкам успішно проходити всі етапи розвитку та метаморфозу без утворення різноманітних аномалій.

9. За біохімічними показниками зародків та передличинок риб встановлено межі оптимального температурного режиму для проходження ембріонального розвитку риб, а саме: для коропа – 20–24°C, для білого товстолобика – 25–28°C, білого амура – 21–29°C, йоржа – 14–16°C, окуня – 9–12°C, плітки – 15–17°C при концентрації кисню вище за 5,0 мг/дм³.

10. Рівень оптимальної для ембріонального розвитку риб температури зменшується на 2–4°C зі зниженням концентрації розчиненого кисню.

11. За біохімічними показниками встановлено, що при переході ембріонів на передличинкові стадії розвитку та для личинок коропових та окуневих видів риб оптимум температури води зростає на 2–3°C.

12. Підвищення температури води на нерестовищах та її істотні коливання протягом доби, які призводять до зменшення концентрації розчиненого кисню, негативно впливають на ембріональний розвиток та репродуктивний потенціал коропових та окуневих видів риб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ФАХОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Романенко В.Д. Основы гидробиологии. К.: Генеза. 2004. 664 с.
2. Janauer G.A. Aquatic Vegetation in River Flood plains: Climate Change Effects, River Restoration and Eco-hydrology Aspects // Climate Change. Inferences from Paleoclimate and Regional Aspects. New York: Springer. 2012. P. 149–156.
3. Hochachka P.W., Somero G.N. Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution. Oxford: Oxford University Press. 2002. 356 p.
4. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука. 2004. 215 с.
5. Шатуновский М.И. Эколого-физиологические подходы к периодизации онтогенеза рыб. // Экологические проблемы онтогенеза рыб: физиолого-биохимические аспекты. М.: Изд-во МГУ. 2001. С. 13–19.
6. Carter K. Effects of Temperature, Dissolved Oxygen/Total Dissolved Gas, Ammonia, and pH on Salmonids // Implications for California's North Coast TMDLs. 2008. July. 53 p.
7. Вербицкий В.Б. Понятие экологического оптимума и его определение у пресноводных пойкилотермных животных // Журнал общей биологии. 2008. Т. 69, № 1. С. 44–56.
8. Детлаф Т.А. Температурно-временные закономерности развития пойкилотермных животных. М.: Наука. 2001. 211 с.
9. Заар Э.И., Кенигсберг Э.В., Лозина-Лозинский Л.К., Рыбак В.Л. Переменные температуры как фактор повышения уровня энергетических процессов пойкилотермных организмов // Журнал общей биологии. 1989. Т. 50, № 4. С. 529–540.
10. Дгебуадзе Ю.Ю. Экологические закономерности изменчивости роста рыб. М.: Наука. 2001. 276 с.
11. Зданович В.В., Пушкарь В.Я. Переменный терморегим как фактор оптимизации биотехнологии выращивания молоди рыб // Второй междунар.

симпозиум «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре». Краснодар, 1999. С. 37–38.

12. Дубняк С.С. Эколого-гидрологический подход к определению границ мелководий на водохранилищах // Гидробиол. журн. 1996. Т. 32, № 5. С. 102–107.

13. Дубняк С.С. Гідродинаміка мілководь дніпровських водосховищ, її екологічна роль. Автореф. дис. канд. геогр. наук. К: Вид-во Київ. ун-ту ім. Тараса Шевченка. 1997. 18 с.

14. Євтушенко М.Ю., Шевченко П.Г., Хижняк М.І. Наукові-методичні рекомендації щодо вибору індикаторних організмів в системі біомоніторингу, Київ: Український фітосоціальний центр. 2011. 24 с.

15. Євтушенко М.Ю. Шевченко П.Г., Хижняк М.І. Науково-методичні рекомендації щодо вибору інтегральних організмів з метою їх застосування в системі біомоніторингу. Київ: Український фітосоціальний центр. 2011. 28 с.

16. Вовк П.С. Влияние температуры на скорость развития и роста молоди растительноядных рыб // Всесоюз. совещ. по теплым водам. М. 1975. С.28–31.

17. Продан С.Е. Зависимость морфометрических показателей личинок белого амура от температуры инкубации // Воспроизводство и выращивание рыб в водоемах Молдовы. Кишинев, 1991. С. 80–86.

18. Гепецкий Н.Е. Разведение и выращивание карпа // Рыбное хозяйство. 1992. № 6. С. 39–41.

19. Константинов А.С., Зданович В.В. Некоторые особенности роста рыб при переменных температурах // Вопр. ихтиологии. 1986. Т. 26, № 3. С. 448–456.

20. Константинов А.С., Зданович В.В., Шолохов А.М. Значение колебаний температуры для выращивания молоди рыб // Рыбное хозяйство. 1990. Вып. 11. С. 46–48.

21. Зданович В.В. Рост и поведение молоди рыб в условиях температурного градиента // Тез. докл. 1 Конгресса ихтиологов России. М.: Изд-во ВНИРО. 1997. С. 277.
22. Жукинский В.Н. Влияние абиотических факторов на разнокачественность и жизнеспособность рыб в раннем онтогенезе. М.: Агропромиздат. 1986. 248 с.
23. Зданович В.В., Аверьянова О.В., Пушкарь В.Я. Эмбрионально-личиночное развитие выюна *Misgurnus fossilis* при постоянных и периодически изменяющихся температурах // Вестник Моск. ун-та. Сер. Биология. 2001. № 2. С. 41–45.
24. Schneider J.C., Copeland J., Wolgamood M. Tolerance of incubating walleye eggs to temperature fluctuation // Aquacult. 2002. Vol. 64, № 1. P. 75–76.
25. Bermudes M., Ritar A.J.. Effects of temperature on the embryonic development of the striped trumpeter (*Latris lineata* Bloch and Schneider, 1801) // Aquaculture. 1999. Vol. 176. P. 245–255.
26. Белоусов Л.В. Основы общей эмбриологии. М.: Изд-во МГУ. 2005. 360 с.
27. Herzig A., Winkler H. The influence of temperature on the embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides* and *Vimba vimba* // J. Fish Biol. Vol. 28. 1986. P. 171–181.
28. Константинов А.С. Статический и астатический оптимум абиотических факторов в жизни рыб // Тез. докл. I Конгресса ихтиологов России. М.: Изд-во ВНИРО. 1997. С. 221–222.
29. Вовк П.С. Реакции эмбрионов и личинок белого амура на температурные воздействия // Разнокачественность раннего онтогенеза у рыб. Киев, 1974. С. 191–226.
30. Иванова Е.Е., Чехосов М.П., Гранатюк С.А. Толстолобик: показатели безопасности // Проблемы воспроизводства растительноядных рыб, их роль в аквакультуре. Мат. докл. Сентябрь. Адлер. 2001. С. 151–152.

31. Зданович В.В. Некоторые особенности роста мозамбикской тиляпии *Oreochromis mossambicus* при постоянных и переменных температурах // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39, № 1. С. 121–128.
32. Schaefer J., Ryan A. Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio* // Journal of Fish Biology. 2006. Vol. 69, № 3. P. 722–734.
33. Bestgen K.R., Williams M.A. Effects of fluctuating and constant temperatures on early development and survival of Colorado squawfish // Trans. Amer. Fish. Soc. 1994. Vol. 123, № 4. P. 574–579.
34. Storey K.B., Storey J.M. Facultative metabolic rate depression: molecular regulation and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation, and estivation // Q. Rev. Biol. 1990. Vol. 65. P. 145–174.
35. Tatrai I., Penczak T. Influence of temperature of reeding on nitrogen metabolism of juvenile bream (*Abramis brama*) // Comp. Biochem. and Physiol. 1985. Vol. 82, № 1. P. 125–129.
36. Tripathi G., Verma P. Sex-specific metabolic changes in the annual reproductive cycle of a freshwater catfish // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 2004. Vol. 137, № 1. P. 101–106.
37. Das T., Pal A.K., Chakraborty S.K. [et al.] Thermal dependence of embryonic development and hatching rate in *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) // Aquaculture. 2006. Vol. 255. P. 536–541.
38. Жиденко А.А. Морфофизиологические адаптации разновозрастных групп *Cyprinus carpio* L. при неблагоприятных воздействиях экологических факторов // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Мат. III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов. 22–26 июня 2010 г. Петрозаводск, 2010. С. 57–59.
39. Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Механизмы температурной акклимации рыб. К.: Наук. думка. 1991. – 192 с.
40. Голованов В.К., Чуйко Г.М., Подгорная В.А. Физиолого-биохимические аспекты адаптаций рыб в зоне сублетальных высоких

температур // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Мат. III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов. 22–26 июня 2010 г. Петрозаводск, 2010. С. 32–34.

41. Мещерякова О.В., Чурова М.В., Немова Н.Н. Биохимические методы оценки роста и развития рыб. Корреляции активности некоторых ферментов метаболизма с показателями веса и роста особей у разных возрастных групп ряпушки оз. Сямозеро (Республика Карелия) // Мат. Всерос. конф. с междунар. участием «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследований». Вологда, 2008. С. 71–75.

42. Кокоза А.А., Загребина О.Н., Григорьев В.А., Бельчич Е.В. Особенности эмбрионального и постэмбрионального развития севрюги (*Acipenser stellatus*) при содержании в разных термических условиях водной среды // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Астрахань. 2014. Т. 16, № 5 (1). С. 543–547.

43. Konecki T.C., Woody C.A., Quinn T.P. Temperature preference in two populations of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // Can. J. Zool. 1995. P.993–996.

44. Kamaldeep K., Stoor H. Role of abiotic factors in the embryonic development of scale carp // Proc. Indian natn. Sci. Acad. 1980. Vol. 46, № 1. P. 136–148.

45. Новиков Г.Г. Рост и энергетика развития костистых рыб в раннем онтогенезе. М.: Эдиториал УРСС, 2000. 296 с.

46. Журавлёва Н.Г. Влияние абиотических и биотических факторов среды на выживаемость эмбрионов и молоди рыб // Вестник МГТУ. 2009. Т. 12, № 2. С. 338–343.

47. Gauthier C., Campbell P., Couture P. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*) // Comparative Biochemistry and Physiology. 2008. Vol. 151. P. 526–532.

48. Константинов А.С. Влияние колебаний температуры на рост, энергетику и физиологическое состояние молоди рыб // Известия РАН. Сер. биологическая. 1993. № 1. С. 55–63.
49. Bein R., Ribí G. Effects of larval density and salinity on the development of perch larvae (*Perca fluviatilis* L.) // Aquatic Sciences. 1994. Vol. 56, № 2. P. 97–105.
50. Лукиянов С.В. Влияние колебаний абиотических факторов (рН, соленость, температура) на рыб в эмбрионально-личиночный период развития. Саранск, 2010. 145 с.
51. Константинов А.С., Зданович В.В., Калашников Ю.Н. Влияние переменной температуры на рост эвритермных и stenотермных рыб // Вопросы ихтиологии. 1987. Т. 27, № 6. С. 917–977.
52. Павлов Д.С., Мещерякова О.В., Веселов А.Е. [и др.] Показатели энергетического обмена у молоди атлантического лосося (*Salmo salar* L.), обитающей в главном русле и притоке реки Варзуга (Кольский полуостров) // Вопросы ихтиологии. 2007. Т. 47. С. 819–826.
53. Burgetz I.J., Rojas-Vargas A., Hinch S.G. Initial recruitment of anaerobic metabolism during sub-maximal swimming in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // J. Exp. Biol. 1998. Vol. 201. P. 2711–2721.
54. Morbey Y.E., Couture P., Busby P. Physiological correlates of seasonal growth patterns in lake trout *Salvelinus namaycush* // Journal of Fish Biology. 2010. Vol. 77. P. 2298–2314.
55. Blaxter J.H. The effect of temperature on larval fishes // Neth. J. Zool. 1992. Vol. 42. P. 336–357.
56. Bonisiawska M., Formicki K., Winnicki A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes // Acta Ichtyol. Piscat. 2000. Vol. 30. P. 61–71.
57. Константинов А.С., Зданович В.В., Шолохов А.М. Значение колебаний температуры для выращивания молоди рыб // Рыбное хозяйство. 1990. № 11. С. 46–48.

58. Костюрина А.Н., Мельник И.В. Значение колебаний температуры при выращивании молоди Тимирязевской Тиляпии // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. 2009. № 2. С. 88–90.
59. Константинов А.С., Зданович В.В. Некоторые особенности роста рыб при переменных температурах // Вопр. Ихтиологии. 1986. Т. 26, № 3. С. 448–456.
60. Urho L. Habitat shifts of perch larvae as survival strategy // Ann. Zool. Fennici. 1996. Vol. 33. P. 329–340.
61. Watanabe Y. Effect of diel temperature alterations on specific growth of red sea bream // Oceanis. 1992. Vol. 18, № 1. P. 133–140.
62. Капшай Д.С. Оценка оптимальных и сублетальных температур у молоди различных видов рыб // Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса. Мат. второй научно-практич. конф. молодых ученых. М.: Изд. ВНИРО, 2011. С. 274–280
63. Andrades J.A., Becerra J., Fernbndez-Llebrez P. Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) // Aquaculture. 1996. Vol. 141. P.1–11.
64. Cameron P., Berg J., Dethlefsen V., Westernhagen H. Developmental defects in pelagic embryos of several flatfish species in the Southern North sea // Netherlands Journal of Sea Research. 1992. Vol. 29. P. 239–256.
65. Зубарева Э.Л. Влияние резкого перепада воды на выживаемость личинок белого амура // Растительоядные рыбы в промышленном рыбоводстве: Тез. докл. Всесоюз. совещ. (Ташкент, октябрь 1980 г.). Ташкент, 1980. С. 162.
66. Lemly A.D. Winter stress syndrome: an important consideration for hazard assessment of aquatic pollutants // Ecotoxicol. Environ. Saf. 1996. Vol. 34, № 3. P. 223–227.
67. Зданович В.В. Некоторые особенности термопреферендного поведения молоди рыб, акклимированных к постоянным и переменным температурам // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41, № 5. С.686–690.

68. Хочачка П., Сомеро Д. Биохимическая адаптация // Пер. с англ. – М.: Мир. 1988. 586 с.
69. Гутиева З.А. Оптимизация выращивания личинок карповых рыб в условиях индустриальной аквакультуры. М., 2005. 195 с.
70. Bunn N.A., Fox C.J., Webb T. A literature review of studies on fish egg mortality: implications for the estimation of spawning stock biomass by the annual egg production method // Science series technical report. Lovestoft. 2000. Vol. 111. P. 37.
71. Korwin-Kossakowski I.M. The Influence of temperature during the embryonic period on larval growth and development in carp, *Cyprinus Carpio* L., and Grass Carp, *Ctenopharyngodon Idella* (Val.) // Theoretical and Practical Aspects Department of Pond Fisheries. Archives of Polish Fisheries. 2008. Vol. 16, № 3. P.231–314.
72. Diana J.S. The growth of largemouth bass, *Micropterus salmoides*, under constant and fluctuating temperatures // J. Fish Biol. 1984. Vol. 24, № 2. P. 165–172.
73. Константинов А.С., Зданович В.В. Влияние колебаний температуры на процессы рыбопродукции // Водные ресурсы. 1996. Т. 23, № 6. С. 760–766.
74. Sayer M.D., Reader J.P., Dalziel T.R. Freshwater acidification: effects on the early life stages of fish // Rev. in Fish Biol, and Fisheries. 1993. Vol. 3. P. 95–132.
75. Зданович В.В. Сопряженность изменения различных параметров метаболизма карпа *Cyprinus carpio* при колебаниях температуры // Вестн. Моск. ун-та. 2004. № 3. С. 45–49.
76. Константинов А.С., Зданович В.В. Влияние осцилляции температуры на рост и физиологическое состояние молоди карпа (*Cyprinus carpio*) // Докл. АН СССР. 1985. Т. 282, № 3. С. 760–764.
77. Rubi G. Perch larvae (*Perca fluviatilis* L.) survive better dilute seawater // Aquatic Sciences. 1992. Vol. 54. P. 85–90.

78. Зданович В.В., Пушкарь В.Я. Влияние частых периодических колебаний температуры на метаболизм рыб // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41, № 3. С. 129–132.
79. Чурова М.В., Мещерякова О.В., Немова Н.Н., Шатуновский М.И. Соотношение роста и некоторых биохимических показателей рыб на примере микижи *Parasalmo mykiss* Walb. // Известия РАН. Сер. «Биология». 2010. № 3. С. 289–299.
80. Hasan V.R., Macintosh R. Optimum food particle size in relation to body size of common carp, *Cyprinus carpio*, fry // Aquacult. And Fish Manag. 1992. Vol. 23, № 3. P. 31–325.
81. Jun W., Ziheng L., Yafen C. The combined effect of temperature and pH on embryonic development of obscure puffer *Takifugu obscurus* and its ecological implications // Biochemical Systematics and Ecology (February 2015). 2015. Vol. 58. P. 1–6.
82. Yoshiaki Y., Akihiro O., Noriyuki H. Effect of water temperature on embryonic development and hatching time of the Japanese eel *Anguilla japonica* // Aquaculture. 2012. Vol. 17. P.100–105.
83. Arenzon A., Lemos C.A., Bohrer M.B. The influence of temperature on the embryonic development of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) // Braz. J. Biol. 2002. Vol. 62, № 4. P. 150–153.
84. Saat T., Veersalu A. The rate of early development in perch *Perca fluviatilis* L. and ruffe *Gymnocephalus cernuus* (L.) at different temperatures // Ann. Zool. Fennici. 1996. Vol. 33. P. 693–698.
85. Коваленко Л.С. Особенности формирования ремонтно-маточных стад растительноядных рыб на рыбопитомниках с повышенным токсическим фоном прудов // Материалы НПК. Адлер, 2000. С.25–26.
86. Clarke W.C. Growth of undery earling sockeye salmon (*On. nerka*) on diel temperature cycles // Techn. Rep. Fishand Mar. Serv. 1978. Vol. 780. P. 19.

87. Симонов В.М. Эффективность проведения селекции белого толстолобика по устойчивости к дефициту кислорода // Материалы НАК. Адлер, 2000. С.45–46.
88. Абрамова Л.С., Недосекова Т.М. Перспективные направления использования растительноядных рыб // Проблемы воспроизводства растительноядных рыб, их роль в аквакультуре. Мат. докл. (Сентябрь). Адлер, 2001. С.145–148.
89. Городилов Ю.Н. Периодизация и хронология развития окуня обыкновенного *Perca fluviatilis* L. // Онтогенез. 1991. Т. 22, № 3. С. 282–290.
90. Eme J., Mueller C.A., Manzoni R.G. [et al.] Critical windows in embryonic development: Shifting incubation temperatures alter heart rate and oxygen consumption of Lake Whitefish (*Coregonus clupeaformis*) embryos and hatchlings // Original Research Article Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology (January 2015). 2015. Vol. 179. P. 71–80.
91. Вечканов В.С., Ручин А.Б., Кузнецов В.А. Некоторые зависимости роста рыб от светового фактора // Тез. докл. I Конгресса ихтиологов России. М.: Изд-во ВНИРО. 1997. С. 107.
92. Петрова Т.Г. Использование гипотермии при выдерживании личинок карповых рыб // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1990. № 60. С. 147–153.
93. Richards J.G., Farrell A.P., Brauner C.J. Metabolic and Molecular Responses of Fish to Hypoxia // Fish Physiology. Hypoxia. San Diego. 2009. Vol. 27. P. 443–485.
94. Привезенцев Ю.А., Власов В.А.. Рыбоводство, М.: Мир. 2004. 456 с.
95. Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных животных в условиях антропогенного загрязнения водоема // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1981. № 51. С. 53–56.
96. Mommsen T.P. Paradigms of growth in fish // Comp. Bioch. and Physiol. Part B. 2001. Vol. 129. P. 207–219.
97. Кеберлайн О.В. Влияние активных кислородных метаболитов на эмбриогенез алтайского зеркального карпа // Диагностика болезней и терапия

животных, патология, онкология и морфология животных. Новосибирск, 2012. 170 с.

98. Смирнова Н.В., Лозовская М.В. Влияние различных концентраций кислорода, диоксида углерода, аммиака на выживаемость осетровых рыб и пути ее повышения // Электронный научный журнал. Современные проблемы науки и образования. Астрахань, 2011. № 5.

99. Anderson N. The Effect sofhypoxia and temperature on developing embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus* // Portland State University PDXScholar Dissertations and Theses Dissertations and Theses Fall. 2012. 52 p.

100. Wieland K. Development of Baltic cod eggs at different levels of temperature and oxygen content // Uwe Waller & Dietrich Schnack. Kiel. 1994. Vol. 10. P. 163–177.

101. Билько В.П. Выживаемость рыб в раннем онтогенезе в зависимости от рН водной среды: (Обзор) // Гидробиол. журнал. 1994. Т. 30, № 4. С. 22–30.

102. Виноградов Г.А. Адаптация водных животных с различными типами осморегуляции к пониженным рН внешней среды // Физиол. и паразит. пресновод. животных. Л.: Наука. 1979. С. 53–56.

103. Константинов А.С., Вечканов В.С., Кузнецов В.А. Влияние колебаний концентрации водородных ионов на рост молоди рыб // Вопросы ихтиологии. 1995. Т. 35, № 1. С. 120–125.

104. Новиков Г.Н. Рост и энергетика развития костистых рыб в раннем онтогенезе. М. 2000. 295 с.

105. Владимиров В.И. Критические периоды развития у рыб // Вопросы ихтиологии. 1975. Т. 15, № 6. С. 955–975.

106. Тельцов Л.П., Столяров В.А., Шагиахметов Ю.С. Критерии определения критических фаз развития органов в онтогенезе // Мат. Российского IV съезда АГ: Рос. морфологические ведомости. М., 1999. № 1–2. С.147–148.

107. Magnuson J.J., Crowder L.B., Medvick P.A. Temperature asan ecological resource // Amer. Zool. 1979. V. 19, № 1. P. 331–343.

108. Тищенко П.Я., Лобанов В.Б., Звалинский В.И. [и др.] Сезонная гипоксия Амурского залива (Японское море) // Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2011. Т. 165. С. 136–157.
109. Денисов Д.Б. Экологические особенности водорослевых сообществ Кольского Севера: современные сукцессии // Актуальные проблемы современной альгологии: Тезисы докл. IV Междунар. конф.. Киев. 2012. С. 91–92.
110. Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс. 1979. 123 с.
111. Krieger J., Fleig R. Yolk mobilization in perch, *Perca fluviatilis* L., embryos // Fish Physiology and Biochemistry. 1999. Vol. 21. P. 157–165.
112. Запруднова Р.А. Стресс у пресноводных рыб: вопросы ионной регуляции // Проблемы экологии, биологии, экологического образования, химии. Ярославль, 2001. С. 248–250.
113. Мартемьянов В.И. Стресс у рыб: адаптивный и негативный аспекты. III Возрастная и экологическая физиология рыб. Борок, 1998. С. 66–67.
114. Мартемьянов В.И. Стресс у рыб: защитные и повреждающие процессы // Биология внутренних вод. 2002. № 4. С. 3–13.
115. Barton B.A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids // Integrative and comparative biology. 2002. Vol. 42. P. 517–525.
116. Озернюк Н.Д. Температурные адаптации. М.: Изд-во МГУ. 2000. 205 с.
117. Вербицкий В.Б. Понятие экологического оптимума и его определение у пресноводных пойкилотермных животных // Журн. общ. биол. 2008. Т. 69, № 1. С. 44–56.
118. Малинин Л.К., Базаров М.И., Голованов В.К., Линник В.Д. Влияние температуры воды на диапазон суточных вертикальных миграций рыб // Поведение и распределение рыб. Докл. 2-го Всерос. совещ. «Поведение рыб». Борок, 1996. С. 103–118.

119. Константинов А.С., Зданович В.В., Шолохов А.М. Астатичность температурных условий как фактор оптимизации роста, энергетики и физиологического состояния молоди рыб // Вестн. Московск. ун-та. Сер. 16. Биол. 1991. № 2. С. 38–44.
120. Вербицкий В.Б. Понятие экологического оптимума и его определение у пресноводных пойкилотермных животных // Журн. общ. биол. 2008. Т. 69, № 1. С. 44–56.
121. Голованов В.К. Экологические и эволюционные аспекты терморегуляции поведения рыб // Вопросы ихтиологии. 2006. Т. 46, Доп. 2. С. 180–187.
122. Немова Н.Н. Внутриклеточные протеолитические ферменты у рыб // Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 1996. 104 с.
123. Чурова М.В., Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Взаимосвязь активности ферментов энергетического обмена с темпами роста и размерами рыб // Ученые записки Петрозаводского государственного университета (Июнь). 2011. № 8 (153). С. 7–14.
124. Barrett A.J., Rawlings N.D., Woessner J.F. Hand book of proteolytic enzymes. Academic, 1998. 666 p.
125. Немова Н.Н., Нефедова З.А., Мурзина С.А. Особенности динамики липидов в раннем развитии атлантического лосося *Salmo salar* L. // Труды Карельского научного центра РАН. 2014. № 5. С. 44–52.
126. Kamler E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective // Reviews in Fish Biol. And Fisheries. 2002. Vol. 12. P. 79–103.
127. Killian J.A., Van Meer G. The «double life» of membrane lipids // EMBO. 2001. Vol. 21. P. 91–95.
128. Бузлама В.С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы защиты организма у животных. Воронеж, 1997. 415 с.
129. Гилберт С. Биология развития. М.: Мир. 1993. Т. 1. 228 с.

130. Мещерякова О.В., Груздев А.И., Немова Н.Н. Сравнительная энзиматическая оценка углеводного обмена окуней *Perca fluviatilis* L. из водоемов с различным уровнем содержания гуминовых кислот // Известия РАН. Сер. биологическая. 2004. № 1. С. 21–26.
131. Varsamos S., Nebel C., Charmantier G. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review // Comp. Biochem. and Physiol. Part A: Molecular & Integrative Physiol. 2005. Vol. 141, № 4. P. 401–429.
132. Wen W., Xuxiong H., Qingkai C. [et al.] Temperature effects on early development and biochemical dynamics of a marine fish, *Inimicus japonicas* // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2013. Vol. 442. P. 22–29.
133. Somero G.N., Childress J.J. Scaling of ATP-supplying enzymes, myofibrillar proteins and buffering capacity in fish muscle: relationship to locomotory habit // J. Exp. Biol. 1990. Vol. 149. P. 319–333.
134. Албертс Б., Брей Д., Льюис Д. [и др.]. Молекулярная биология клетки / 2-е изд. М.: Мир. 1994. Т. 1. 465 с.
135. Pelletier D., Guderley H., Dutil J.D. Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? // Fich Physiol. Biochem. 1993. Vol. 12. P. 83–93.
136. Guderley H. Locomotor performance and muscle metabolic capacities: impact of temperature and energetic status // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 2004. Vol. 139. P. 371–382.
137. Goolish E.M. Aerobic and anaerobic scaling in fish // Biological Reviews. 1991. Vol. 66. P. 33–56.
138. Иванков В.Н. Репродуктивная биология рыб. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2001. 223 с.
139. Couture P., Dutil J.-D., Guderley H. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from New foundland // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1998. Vol. 55. P. 1591–1598.
140. Drazen J.C., Seibel B.A. Depth-related trends in metabolism of benthic and benthopelagic deep-sea fishes // Limnol. Oceanogr. 2007. Vol. 52. P. 2306–2316.

141. Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб и беспозвоночных. М.: Наука, 2000. 216 с.
142. Запруднова Р. А. Обмен и регуляция катионов у пресноводных рыб при стрессе // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Борок, 2003. 23 с.
143. Кравцов А.В., Алексенко И.Р. Механизмы регуляции векторных ферментов биомембран, Киев: Наук. Думка, 1990. 176 с.
144. Антонов В.Ф. Мембранный транспорт // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 6. С. 4–12.
145. Константинов А.С., Пушкарь В.Я., Зданович В.В., Соловьева Е.А. Влияние колебаний температуры на скорость роста и размножение пресноводных планктонных водоростей // Вестн. Моск. Ун-та. 1998. № 1. С. 47–50.
146. Константинов А.С., Пушкарь В.Я., Зданович В.В., Соловьева Е.А. Влияние колебаний температуры на продукционные характеристики планктонной водоросли *Scenedesmus quadricauda* // Вестн. Моск. Ун-та. 1999. № 2. С. 49–53.
147. Константинов А.С., Тагирова Н.А., Степаненко В.М., Соловьева Е.А. Влияние колебаний некоторых абиотических факторов на рост, размножение и энергетику коловратки *Euchlanis dilatata* Ehrenberg // Гидробиолог. журн. 1995. Т. 31, № 6. С. 14–21.
148. Константинов А.С., Вечканов В.С., Кузнецов В.А., Ручин А.Б. Астатичность абиотической среды как условие оптимизации роста и развития личинок травяной лягушки *Rana temporaria* // Докл. РАН. 2000. № 4. С. 559–562.
149. Кяйвярйянен Е.И., Борвинская Е.В., Куклина М.М., Немова Н.Н. Роль Na^+/K^+ -АТФ-азы в биохимических механизмах адаптаций к биотическим и абиотическим факторам среды // Проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Мат. III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов (22–26 июня 2010 г). Петрозаводск, 2010. С. 100–101.

150. Бойко Н., Целевич М., Санагурський Д. Вплив йонів важких металів на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази та динаміку трансмембранного потенціалу зародків вьюна // Вісник Львів. Ун-ту. Сер.: Біологія. 2002. Вип. 29. С. 25–31.
151. Бойко Н., Целевич М., Санагурський Д. Активність Na^+/K^+ -АТФ-ази мембран зародків вьюна за дії катіонів важких металів // Укр. Біохім. журн. 2004. Т. 76, № 2. С. 59–63.
152. Абросимов С.С., Хлебнова Е.Ю. Изменение липидного и жирно-кислотного обмена при некоторых заболеваниях рыб // Изв. высш. учебн. завед. Сев.-Кавказского региона. Естеств.Науки. 2003. № 10. С.52–59.
153. Федоненко Е.В., Ананьева Т.В., Шарамок Т.С. Некоторые аспекты энергетического и пластического обмена у промысловых рыб Запорожского водохранилища в условиях загрязнения тяжелыми металлами // Мат. III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов. Научное издание «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (22 июня–26 июня 2010 г). Петрозаводск, 2010. С. 182–184.
154. Houlihan D.F., Mathers E.M., Foster A. Biochemical correlates of growth rate in fish // Fish Ecophysiology. London. 1993. Chapter 2. P. 45–71.
155. Koedijk R.M., Le Franzois N.R., Blier P.U. [et al.] Ontogenetic effects of diet during early development on growth performance, myosin mRNA expression and metabolic enzyme activity in Atlantic cod juveniles reared at different salinities // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2010. Vol. 156. P. 102–109.
156. Ahmad R., Hasnain A.U. Ontogenetic changes and developmental adjustments in lactate dehydrogenase isozymes of an obligate air-breathing fish *Channa punctatus* during deprivation of air access // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 2005. Vol. 140. P. 271–278.
157. Абросимова Н.А., Абросимова К.С. Активность дегидрогеназ в процессе развития тимпатии у молоди стерляди *Acipenser ruthenus* L. // Экология животных Юг России: экология, развитие. 2012. № 1. С. 59–63.

158. Burness G.P., Leary S.C., Hochachka P.W., Moyes C.D. Allometric scaling of RNA, DNA, and enzyme levels in fish muscle // *Am. J. Physiol.* 1999. Vol. 277. P. 1164–1170.
159. Земков Г.В., Журавлева Г.Ф. Кинетика патологических изменений прикумулятивном токсикозе в организме как критерий сопротивляемости популяции рыб. 2004. № 1. С. 1–47.
160. Nathanailides C., Stickland N.C. Activity of cytochrome c oxidase and lactate dehydrogenase in muscle tissue of slow growing (lower modal group) and fast growing (upper modal group) Atlantic salmon // *Journal of Fish Biology.* 1996. Vol. 48. P. 549–551.
161. Yang T.H., Somero G.N. Activity of lactate dehydrogenase but not its concentration of messenger RNA increases with body size in barred sand bass, *Paralabrax nebulifer* (Teleostei) // *Biol. Bull.* 1996. Vol. 191. P. 155–158.
162. Kaupp S.E. The ontogenetic development of the metabolic enzymes citrate synthase and lactate dehydrogenase in the swimming muscles of larval and juvenile fishes // M. S. thesis. University of California, San Diego. 1987. P. 572–576.
163. Fields P.A., Houseman D.E. Decreases in Activation Energy and Substrate Affinity in Cold-Adapted A4-Lactate Dehydrogenase: Evidence from the Antarctic Notothenioid Fish *Chaenocephalus aceratus* // *Molecular Biology and Evolution.* 2004. Vol. 21. P. 224–225.
164. Зданович В.В. Некоторые особенности термо-преферентного поведения молоди рыб, акклимированной к постоянным и переменным температурам // *Вопр. ихтиол.* 2001. Т. 41, № 5. С. 686–690.
165. Гулевский А.К., Грищенко Е.А., Релина Л.И. [и др.] Изменения активности ЛДГ и содержания пирувата у карася серебряного в зависимости от времени года и температуры акклимации // *Вісник проблем біології і медицини.* 2008. № 3. С. 14–18.
166. Fields P.A., Kim Y.S., Carpenter J.F., Somero G.N. Temperature adaptation in *Gillichthys* (Teleost:Gobiidae) A4-lactate dehydrogenase: identical

primary structures produce subtly different conformations // *Journal of Experimental Biology*. 2002. Vol. 205. P. 129–130.

167. Гулевский А.К., Грищенкова Е.А., Релина Л.И. [и др.]. Биохимические и морфологические аспекты сезонной и искусственной акклимации карася серебряного // *Проблемы криобиологии*. 2008. Т. 18, № 4. С. 499–501.

168. Mesquita-Saad L.S., Leitaio M.A., Paula-Silva M.N. [et al.]. Specialized metabolism and biochemical suppression during aestivation of the extant south American lungfish // *Braz. J. Biol.* 2002. Vol. 62, № 3. P. 495–501.

169. Bolasina S., Páirez A., Yamashita Y. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* // *Aquaculture*. 2006. Vol. 252, № (2–4). P. 503–515.

170. Cara J.B., Moyano F.J., Córdenas S. [et al.]. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream // *J. Fish Biol.* 2003. Vol. 63, № 1. P. 48–58.

171. Золотарева Г.В., Кузьмина В.В., Шептицкий В.А. Влияние условий среды обитания на pH-зависимость протеиназ и гликозидаз кишечной микрофлоры карася // *Экология*. 2014. № 4. С. 301–308.

172. Cuvier-Peres A., Kestemont P. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2002. V. 24. P. 279–285.

173. Голованова И.Л., Филиппов А.А., Чеботарева Ю.В. [и др.]. Влияние экстремальных воздействий в период раннего индивидуального развития на пищеварительные гидролазы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // *Вопр. ихтиологии*. 1998. Т. 38, № 4. С. 524–529.

174. Изюмов Ю.Г., Крылов В.В. Действие флуктуаций магнитного поля, имитирующих геомагнитную активность, во время эмбриогенеза на амилалитическую активность в кишечнике сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // *Труды Карельского научного центра РАН*. 2016. № 6. С. 81–90.

175. Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И. [и др.]. Здоровье среды: методика оценки. М.: ЦЭПР. 2000. 65 с.
176. Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Некрасов В.Н. Использование микроядерного теста в скрининге и мониторинге мутагенов // Цитология и генетика. 1988. Т. 22, № 7. С. 67–72.
177. Ильинских Н.Н. Физиологические факторы мутагенеза в связи с изменением иммунореактивности организма // III школа-семинар по генетике и селекции животных. II научные чтения памяти академика Д.К. Беляева. – Новосибирск, 1989. 47 с.
178. Пак И.В. Цитогенетический подход оценки стабильности развития природных популяций сиговых рыб // Онтогенез. 2004. Т. 35, № 1. С. 37–40.
179. Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Ванчугова Н.Н. [и др.] Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Изд-во Томск. ун-та. 1992. 272 с.
180. Кузина Т.В. Образование микроядер в эритроцитах промысловых рыб Волго-Каспийского канала. Астрахань. 2010. № 4 (33). С. 124–129.
181. Culberson C.H., Knapp G., Williams R.T., Zemlyak F. A comparison of methods for the determination of dissolved oxygen in sea water // WHP Office report, WHPO-91-2. 1991. 77 p.
182. Северин С.Е., Соловьева Г.А., Практикум по биохимии. М.: Изд-во МГУ. 1989. 510 с.
183. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа. М.: Наука. 1969. 740 с.
184. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. М.: Наука. 1965. 544 с.
185. Кондрашова М.Н., Лесогорова М.Н., Шноль С.Э. Метод определения неорганического фосфора по спектрам поглощения в ультрафиолете // Биохимия. 1965. Т. 30, № 3. С. 567–572.
186. Пат. 2373538 Российская Федерация, МПК G01N33/53, G01N33/573. Способ определения IgG-протеиназной активности / Тюрин Ю.А., Куликов С.Н., Фассахов Р.С., Долбин Д.А., Баязитова Л.Т. (РФ); заявитель и

патентообладатель Гос. образов. учреждение доп. проф. образования "Казанская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию", Федерал. гос. учреждение науки "Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора. – № 2008113407/13; заявл. 28.03.2008; опубл. 20.11.2009, Бюл. № 32. – 5 с.

187. Корниенко Г.Г., Бойко Н.Е., Бугаев Л.А. [и др.]. Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-черноморского бассейна. Методическое руководство. Ростов-на-Дону: Эверест, 2005. 105 с.

188. Herzig A., Winkler H. The influence of temperature on the embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides* and *Vimba vimba* // J. Fish Biol. 1986. Vol. 28. P. 171–181.

189. Вовк П.С. Реакции эмбрионов и личинок белого амура на температурные воздействия // Разнокачественность раннего онтогенеза у рыб. Киев. 1974. С. 191–226.

190. Gauthier C., Campbell P., Couture P. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*) // Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 2008. Vol. 151. P. 526–532.

191. Кокоза А., Загребина О.Н., Григорьев В.А., Бельчич Е.В. Особенности эмбрионального и постэмбрионального развития севрюги (*Acipenser stellatus*) при содержании в разных термических условиях водной среды // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 5 (1). С. 121–137.

192. Schaefer J., Ryan A. Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio* // Journal of Fish Biology. 2006. Vol. 69, № 3. P. 722–734.

193. Alami-Durante H., Bergot P., Rouel M., Goldspink G. Effects of environmental temperature on the development of the myotomal white muscle in larval carp (*Cyprinus carpio* L.) // J. Exp. Biol. 2000. Vol. 203. P. 367–368.

194. Голованов В.К. Эколого-физиологические аспекты терморегуляционного поведения пресноводных рыб // Поведение и

распределение рыб. Докл. 2-го Всерос. совещ. «Поведение рыб». Борок. 1996. С. 16–40.

195. D'Amico S., Claverie P., Collins T. [et al.]. Molecular basis of cold adaptation // Transactions of Royal Society of London. 2002. Vol. 357. P. 917–925.

196. Мензорова Н.И., Рассказов В.А. Использование различных тест-систем и биохимической индикации для мониторинга экологического состояния бухты Троицы (Японское море) // Биология моря. 2007. Т. 33, № 2. С. 144–149.

197. Dahlhoff E.P. Biochemical indicators of stress and metabolism: applications for marine ecological studies // Annu. Rev. Physiol. 2004. Vol. 66. P. 183–207.

198. Лав Р.М. Химическая биология рыб. М.: Пищевая пром-сть. 1976. 187 с.

199. Захаров В.М. Оценка состояния биоразнообразия и здоровья среды // Поволжский экологический журнал. 2014. № 1. С. 50–59.

200. Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Некрасов В.Н. Использование микроядерного теста в скрининге и мониторинге мутагенов // Цитология и генетика. 2001. Т. 22, № 1. С. 67–72.

201. Соболев М.А. Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды // Цитология и генетика. 2001. Т. 35, № 3. С. 72–84.

202. Межжерин С.В., Кокодий С.В. Поликлоновая структура европейских серебряных карасей *Carassius auratus* в водоемах Украины // Доповіді НАН України. 2008. С. 162–169.

203. Попов П.А. Оценка экологического состояния водоемов методами ихтиоиндикации. Новосибирск, 2002. 270 с.

204. Хева С.Н., Щедрина Л.В., Степанов Р.П. К механизму образования микроядер в ФГА-стимулированных лимфоцитах периферической крови человека // Цитология. 1996. Т. 28. С. 227–231.

205. Архипчук В.В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании // Цитология и генетика. 1995. Т. 29, № 3. С. 6–11.
206. Архипчук В.В., Жукинский В.Н. Изменение количественных характеристик ядрышек в эмбриогенезе некоторых карповых рыб и в связи с разнокачественностью икры // Рыбное хозяйство. К. 1987. № 43. С. 18–24.
207. Howel W.M., Black D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method // Experientia. 1980. Vol. 36. P.1014–1015.
208. Gracey A., Lee T-H., Higashi R. [et al.]. Hypoxia-induced mobilization of stored triglycerides in the euryoxic goby *Gillichthys mirabilis* // The Journal of Experimental Biology. Published by The Company of Biologists Ltd. 2011. Vol. 214. P. 3005–3012.
209. Roesner A., Hankeln T., Burmester T. Hypoxia induces a complex response of globin expression in zebrafish (*Danio rerio*) // The Journal of Experimental Biology. Published by The Company of Biologists. 2006. Vol. 209. P. 2129–2137.
210. Cossins A.R., Crawford D.L. Fish as models for environmental genomics // Nat. Rev. Genet. 2005. Vol. 6. P. 324–333.
211. Dalla V.J., Thillart G., Cattani O., Zwaan A. Influence of longterm hypoxia exposure on the energy metabolism of *Solea solea*. // II. Intermediary metabolism in blood, liver, and muscle. Mar. Ecol. Prog. Ser. 1994. Vol. 111. P. 17–27.
212. Gracey A.Y., Troll J.V., Somero G.N. Hypoxia-induced gene expression profiling in the euryoxic fish *Gillichthys mirabilis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 1993–1998.
213. Hoppeler H. Muscle tissue adaptations to hypoxia // Vogt Exp. Biol. 2001. Vol. 204. P. 3133–3139.
214. Jezek P., Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2005. 37. P. 2478–2503.

215. Nilsson G.E., Renshaw G.M. Hypoxic survival strategies in two fishes: extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral-reef shark // J. Exp. Biol. 2004. Vol. 207. P. 3131–3139.
216. Sollid J., Kjærnsli A., De Angelis P.M. [et al.]. Cell proliferation and gill morphology in anoxic crucian carp // Am. J. Physiol. 2005. Vol. 289. P. 1196–1201.
217. Meer D.L., Thillart G.E., Witte F. [et al.]. Gene expression profiling of the long-term adaptive response to hypoxia in the gills of adult zebrafish // Am. J. Physiol. 2005. Vol. 289. P. 1512–1519.
218. Андреева А.Ю. Морфофункциональные характеристики эритроцитов *Scorpena porcus* L. в условиях гипоксии (эксперименты in vitro) // Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского. Специальность 03.03.01. Севастополь, 2014. 165 с.
219. Roesner A., Hankeln T., Burmester T. Hypoxia induces a complex response of globin expression in zebrafish (*Danio rerio*) // J Exp Biol. 2006. Vol. 209 (Pt 11). P. 2129–2137.
220. Awenius C., Hankeln T., Burmester T. Neuroglobins from the zebrafish *Danio rerio* and the pufferfish *Tetraodon nigroviridis* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001. Vol. 287. P. 418–421.
221. Чебанов М.С., Галич Е.В. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб // Технические доклады ФАО по рыбному хозяйству и аквакультуре. Анкара, 2011. № 558. 297 с.
222. Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г., Чеботарева Ю.В. Количество микроядер в эритроцитах периферической крови плотвы *Rutilus rutilus* и леща *Abramis brama* Рыбинского и Горьковского водохранилищ // Биология внутренних вод. 2003. № 1. С. 98–101.
223. Заботкина Е.А., Камшилова Т.Б., Чуйко Г.М. Оценка влияния полихлорированных бифенилов, поступающих с кормом, на гематологические показатели молоди плотвы // Организмы, популяции, экосистемы: проблемы и пути сохранения биоразнообразия: мат-лы Всерос. конф. Вологда, 2008. С. 32–35.

224. Власов В.А. Рост молоди карпа в зависимости от абиотических факторов среды и питательной ценности кормов // 1 конгресс ихтиологов России. Астрахань, 1997. С. 328.
225. Gewin V. Dead in the water // Nature. 2010. Vol. 466, № 7308. P. 812–814.
226. Soldatov A.A., Savina M.V. Effect of hypoxia on the content and stoichiometry of cytochromes in muscle of the gray mullet *Liza aurata* // J. Evol. Biochem. Physiol. 2008. Vol. 44, № 5. P. 599–604.
227. Новицкая В.Н., Солдатов А.А., Парфенова И.А. Функциональная морфология, сопряжение мембранных и метаболических функций у ядерных эритроцитов *Scorpaena porcus* L. в условиях экспериментальной гипоксии // Доп. НАН України. 2011. № 10. С. 131–136.
228. Chew S.F., Gan J. Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud // Physiol. Biochem. Zool. 2005. Vol. 78, № 4. P. 620–629.
229. Mommsen T.P., French C.J., Hochachka P.W. Sites and patterns of protein and amino acid utilization during the spawning migration of salmon // Can. J. Zool. 1980. Vol. 58, № 10. P. 1785–1799.
230. Chapman L.J., McKenzie D.J. Behavioral responses and ecological consequences // Fish Physiol. 2009. Vol. 27. P. 25–77.
231. Водяніцький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Репродуктивні властивості краснопірки за дії екологічних чинників // Наук. записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. Тернопіль: ТНПУ. 2015. Вип. 3/4 (64). С. 96–99.
232. Водяніцький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Вплив коливань температурного режиму водойми на ембріональний розвиток білого товстолобика // Рибогосподарська наука України. 2015. №1. С. 96–107.
233. Водяніцький О.М., Прімачов М.Т., Гриневич Н.Є. Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на виживаність та

розвиток корокових риб // Науковий вісник НУБіП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2016. Вип. 234. С. 70–78.

234. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Худіаш Ю.М. Вплив коливань температурного та кисневого режимів водойми на вміст білків та глікогену в ембріонах корокових риб // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2016. № 3–4 (67). С. 48–55.

235. Vodianitskiy O.M., Potrokhov O.S., Zinkovskiy O.G. Embryonic and Early Postembryonic Development of Carp and Activity of Enzymes of the Energy and Plastic Metabolism under Impact of Water Temperature Fluctuations // Hydrob. J. 2017. Vol. 53, 1. P. 78–86.

236. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г., Причепа М.В. Зміна активності Na^+/K^+ -АТФази в ембріонах корокових риб за дії різного температурного та кисневого режиму водойм // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2017. Вип. 75. С. 14–22.

237. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Гриневич Н.Є. Зміна активності ферментів енергетичного обміну ембріонів коропа за дії абіотичних чинників водного середовища // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. БНАУ. 2016. № 1. С. 9–16.

238. Водяницький О.М., Потрохов О.С., Гриневич Н.Є., Куновський Ю.В., Присяжнюк Н.М., Михальський О.Р. Вплив коливань температурного режиму водойми на вміст білків в ембріонах та передличинках окуня звичайного (*Perca fluviatilis*, L.) // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. БНАУ. 2016. № 2. С. 56–61.

239. Водяницький О.М. Вплив температурного режиму водойми на ембріогенез коропа // Актуальні проблеми сучасної гідроекології. Науково-практ. конф. для молодих вчених. Присвячена 95-річчю НАН України. Київ, 2013. С. 14–15.

240. Белошапка Т.В., Водяницкий А.М., Матвиенко Н.Н., Желтоножская Т.Б., Пермякова Н.М. Использование витаминов А и В₆, инкапсулированных в полимерные носители, при выращивании мальков чешуйчатого карпа //

«Сучасні проблеми викладання та наукових досліджень біології у ВНЗ України», Мат. І Всеукр. науково-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, 8–9 жовтня 2014 року, м. Дніпропетровськ, Україна. Дніпропетровськ, 2014. С. 111–113.

241. Водяніцький О.М., Потрохов О.С., Зінковський О.Г. Ембріональний розвиток коропа та активність ферментів енергетичного та пластичного обміну за дії коливань температурного режиму водойми // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології. Мат. VII Міжнар. іхтіол. науково-практ. конф. Присвячується 140-річчю Херсонського державного аграрного університету. 10-13 вересня 2014 року м. Мелітополь-Бердянськ, Україна. Мелітополь-Бердянськ, 2014. С. 38–42.

242. Водяніцький О.М. Активність ферментів енергетичного та пластичного обміну ембріонів білого товстолобика за дії коливань температурного та кисневого режиму водойм // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем. Зб. мат. науково-практ. конф., присвяченої 75-річчю заснування Інституту гідробіології НАНУ. 2-3 квітня, 2015 р. Київ, 2015. С.16–18.

243. Водяніцький О.М. Активність ферменту ЛДГ в ембріонах білого товстолобика залежно від дії різких коливань температурного та кисневого режимів водойми // Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті: тези доповідей міжнар. науково-практ. конф. молодих учених, аспірантів і докторантів «Екологічні проблеми сучасного світу та шляхи їх вирішення», 14–15 травня 2015 р. Біла Церква, 2015. С. 13.

244. Водяніцький О.М. Вплив абіотичних чинників водного середовища на ранній ембріогенез риб // Екологічні проблеми України та шляхи їх вирішення: тези доповідей держ. науково-практ. конф., 19 листопада 2015 р. Біла Церква, 2015. С. 26.

245. Водяніцький О.М. Активність ферменту СДГ ембріонів білого товстолобика та білого амура за дії коливань температурного та кисневого режиму водойми // Міжнар. науково-практ. конф. молодих вчених, аспірантів і

докторантів. “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті”, 19–20 травня 2016 р. Біла Церква 2016. С. 42–43.

246. Водяніцький О.М., Причепа М.В. Вплив абіотичних чинників на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази під час ембріонального розвитку коропа та білого амура // Науково-практ. конф. молодих вчених «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» 6–7 жовтня 2016 р. Київ. С. 13–15.

247. Водяніцький О.М., Куновський Ю.В. Вплив коливань температурного та кисневого режиму водойми на кількість білків та глікогену в ембріонах коропа // Держ. науково-практ. конф. "Аграрна наука – виробництву" 17 листопад, Біла Церква. 2016. С. 18–19.

248. Белошапка Т.В., Матвієнко Н.М., Водяніцький О.М. Вплив вітамінів А та В₆ на рибницько-біологічні показники цьоголіток коропа кої (*Cuprinus carpio koi*) при впливу стрес факторів // «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології». Мат. IX міжнар. іхтіол. науково-практ. конф. Одеський держ. екологічний ун–тет, 14–16 вересня 2016 р. Одеса, 2016. С. 17–19.

249. Водяніцький О.М., Потрохов О.С., Зіньковський О.Г. Активність ферментів енергетичного обміну в ембріонах та передличинках плітки за дії різного температурного та кисневого режиму водойми // Мат. II Міжнар. науково-практич. конф. «Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем». 12–15 вересня 2017 року, м. Дніпро, Україна. Дніпро, 2017. С. 50–52.