

УДК [547.458.63:632.951](597.511.2)

М. А. МИРОНЮК<sup>1</sup>, В. А. ХОМЕНЧУК<sup>2</sup>, О. М. АРСАН<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт гидробиологии НАН Украины  
пр-т Героев Сталинграда, 12, Киев, 04210<sup>2</sup>Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка  
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь, 46027

## **СОДЕРЖАНИЕ ГЛИКОГЕНА В ТКАНЯХ КАРПА (*CYPRINUS CARPIO* L.) ПОД ВЛИЯНИЕМ ХЛОР- И ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

Исследовали содержание гликогена в тканях карпа под воздействием разных концентраций хлор- (фипронил) и фосфорорганического (диметоат) соединений. Содержание гликогена в печени карпа в сравнении с контролем возрастало при концентрации 75 и 100 мкг/л фипронила. Исследованные концентрации диметоата не влияют на содержание гликогена в тканях рыб.

*Ключевые слова:* гликоген, печень, мышца, карп, хлор- и фосфорорганические соединения, фипронил, диметоат

Для нормального протекания процессов жизнедеятельности водным организм, в том числе и рыбам, необходима энергия, которая высвобождается в процессе переваривания ими углеводов, жиров и белков, содержащихся в пище. При этом часть энергии рыбами используется сразу, а часть сохраняется в виде запасных питательных веществ, в форме гликогена, что позволяет им обеспечивать энергией процессы жизнедеятельности даже в условиях недостатка кислорода гликолитическим путем.

Гликоген представляет собой разветвленный полисахарид, остатки глюкозы в котором формируют длинные цепи за счет образования гликозидных связей. Синтез и деградация гликогена осуществляются за счет согласованной работы нескольких ферментов, основными из которых являются гликогенсинтетаза (синтез гликогена) и гликогенфосфорилаза (деградация гликогена). Гликоген распадается до глюкозы или глюкозо-6-фосфата, которые живые организмы могут использовать для получения энергии. Метаболизм гликогена в тканях позвоночных животных исследован достаточно подробно [17, 18, 19, 20]. В отношении рыб известно, что процессы синтеза и ресинтеза гликогена у них в целом осуществляются так же, как и у позвоночных животных. Кроме того, в организме рыб, как и млекопитающих, гликоген запасается в основном в печени и мышцах [7].

В последнее время значительные масштабы применения пестицидов увеличили их поступление в водоемы, в связи с чем возник вопрос об изучении их воздействия на водные экосистемы. Попадая в водоемы, пестициды по трофическим цепям передаются и накапливаются гидробионтами в количествах, на несколько порядков превосходящих их первоначальную концентрацию в воде [1, 2, 4, 13]. Однако особенно высокие концентрации этих веществ и их метаболитов содержатся именно в организме рыб, как последнего звена гидросферы [4, 8]. Известно, что в организм рыб они поступают в основном через жабры и частично кожу, распределяются по всем органам и тканям, концентрируясь в наибольших количествах во внутренних органах (печени, почках, стенке кишечника, селезенке). В процессе метаболизма пестицидов в органах рыб могут образовываться более токсичные метаболиты, которые следует учитывать при оценке токсичности их препаратов. Поскольку содержание гликогена является одним из важнейших показателей обмена веществ, а также одним из основных источников энергии у рыб, целью настоящей работы было изучение влияния хлор- (фипронил) и фосфорорганических (диметоат) соединений (ХОС и ФОС) на содержание гликогена в различных тканях рыб.

### **Материал и методы исследований**

В качестве объекта исследования был взят карп (*Cyprinus carpio* L.), представитель пресноводной ихтиофауны. Карпа весом 250 – 300 г, выращенного на Белоцерковской экспериментальной гидробиологической станции Института гидробиологии НАН Украины,

содержали по 5 штук в хорошо аэрируемых стеклянных аквариумах объемом 100 л, с кормлением, в воде с температурой 20-22 °С.

В опытные аквариумы добавляли диметоат (в виде гранул) и Регент 25 с действующим веществом фипронил в концентрациях 0,15; 0,3; 0,45 мг/л и 50; 75; 100 мкг/л соответственно. Контролем была группа рыб, содержащихся в аквариуме без добавления пестицидов. Воду в аквариумах меняли через каждые два дня с добавлением необходимого количества пестицида. Рыба находилась в аквариумах в течение 14 дней [14].

Ткани (печень, мышцы) промывали в дистиллированной воде, высушивали фильтровальной бумагой. Образцы замораживали в морозильной камере (-18 °С). От замороженных образцов отсекали кусочки ткани (около 100 мг) и взвешивали на аналитических весах. Для экстракции гликогена навеску ткани помещали в пробирку с 3 мл 30% КОН и кипятили на водяной бане до полного растворения (20 мин), после чего раствор охлаждали. Содержимое пробирок количественно переносили в мерные колбочки, и объем доводили до метки водой. Объем добавляемой воды зависел от предполагаемой концентрации гликогена в пробе.

Содержание гликогена определяли с помощью антронового реактива в соответствии с методом [12], измеряя интенсивность зелено-синей окраски, полученной в результате реакции, на спектрофотометре при длине волны 620 нм. Концентрацию гликогена выражали в мг % гликогена на 100 г сырого веса ткани, учитывая показания спектрофотометра, полученные для стандартного раствора глюкозы, разведение и вес пробы.

Статистическую обработку данных проводили с помощью Microsoft Excel, достоверность различия между средними арифметическими величинами определяли по t-критерию Стьюдента [6]. Различия между сравниваемыми группами считали достоверными при P<0,05.

### Результаты исследований и их обсуждение

Известно, что признаки отравлений рыб хлор- и фосфорорганическими пестицидами отличаются только некоторыми особенностями в зависимости от препарата [3,5,15]. С повышением концентрации и увеличением экспозиции воздействия интенсивность их проявления усиливается [9, 11]. Для отравлений рыб ХОС и ФОС характерен нервнопаралитический синдром [8], а местно-раздражающее действие выражено слабо. Кроме того, способность к материальной кумуляции у ФОС выражена слабее, чем у ХОС. Однако они обладают функциональной кумуляцией и поэтому могут вызывать хронические отравления. Исходя из физико-химических свойств этих веществ, в первую очередь, плохой растворимости в воде и хорошей — в органических растворителях и жирах, следует отметить не только их кумулятивное действие и влияние на нервную систему, но и влияние на обмен углеводов [10].

Так, внесение в среду препарата Регент 25 с действующим веществом – фипронил в концентрации 50 мкг/л практически не влияло на содержание гликогена в печени и мышцах карпа и составило 9,8 и 30,4 мг% соответственно (рис.1.). Эти данные указывают на относительную стабильность уровня гликогена в тканях рыб в присутствии данной концентрации фипронила. При концентрации фипронила 75 мкг/л содержание гликогена увеличилось в 2,7 раза не только в печени рыб, но и – в 2 раза в мышцах карпа относительно контроля. Под действием фипронила в концентрации 100 мкг/л содержание гликогена изменилось только в печени карпа (возросло в 2 раза) в то время как в мышцах рыб осталось без изменений. Аналогичные сдвиги наблюдаются и у теплокровных животных при отравлении ХОС. Препараты этого класса стимулирует гепатический гликонеогенз [3, 16, 21].

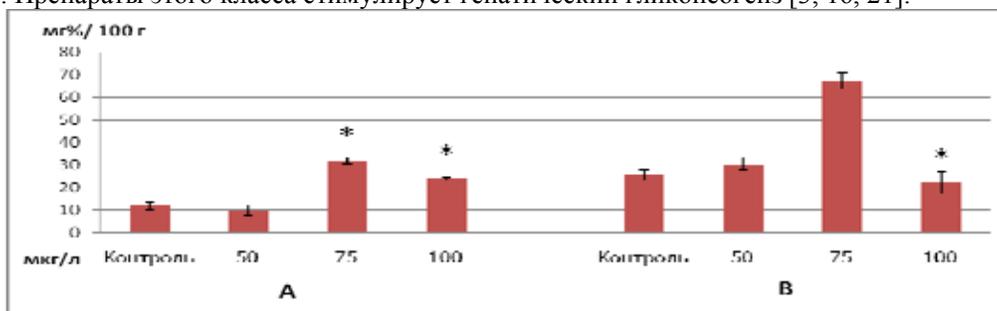


Рис. 1. Содержание гликогена (мг %/100 г) в печени (А) и мышцах (В) карпа под действием фипронила.  $M \pm m, n=4$

Примечание. Здесь и на рис. 2. \* -результат достоверный ( $P<0,05$ )

В отличие от фипронила, диметоат действовал на рыб иначе (рис. 2.). При его концентрации в водной среде 0,15 и 0,30 мг/л содержание гликогена в печени и мышцах карпа практически не изменилось по сравнению с контролем. В то же время концентрация 0,45 мг/л диметоата в воде не влияла на количество гликогена в печени рыб, а в мышцах - приводила к увеличению на 35,5%.

Полученные нами данные показывают, что фипронил в исследуемых концентрациях в большей степени влияет на содержание гликогена в тканях рыб, чем диметоат. Причем, под его действием наиболее интенсивно протекают процессы синтеза гликогена в печени карпа. Тот факт, что изменение содержания гликогена в печени карпа в присутствии диметоата в водной среде оказалось менее выраженным по сравнению с таковым под влиянием фипронила, может свидетельствовать о разной чувствительности рыб к этим веществам, специфики «места» действия взятых соединений и их свойств.

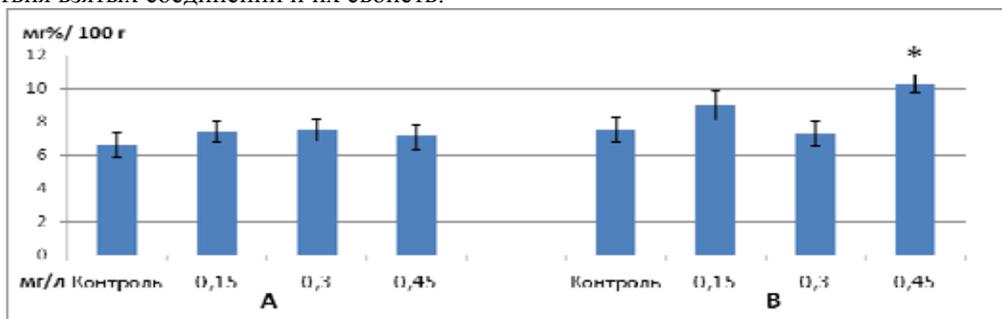


Рис. 2. Содержание гликогена (мг %/100 г) в печени (А) и мышцах (В) карпа под действием диметоата.  $M \pm m, n=4$

Поскольку в наших экспериментах наблюдалось увеличение содержания гликогена в тканях рыб и, особенно в печени, то можно предположить, что ФОС и ХОС в первую очередь влияют на активность ферментов, осуществляющих синтез гликогена.

### Выводы

1. Содержание гликогена в тканях карпа зависит от концентрации фипронила и диметоата в водной среде.
2. Фипронил увеличивает содержание гликогена в печени и частично в мышцах карпа.
3. Влияние концентраций фипронила на содержание гликогена в тканях рыб более выражено по сравнению с исследованными концентрациями диметоата.

1. Брагинский Л. П. Пестициды и жизнь водоемов / Л. П. Брагинский. – Киев: Наук. думка, 1972. – 228 с.
2. Брагинский Л. П., Комаровский Ф. Я., Маляревская А. Я. Закономерности накопления и миграции пестицидов в экосистемах равнинных водохранилищ // Прогнозирование поведения пестицидов в окружающей среде: Тр. Советско-амер. Симп., Ереван. окт. 1981 г. – Л.: Гидрометеоздат, 1984. – С. 178 – 193.
3. Гдовский П. А. Физиолого-биохимические механизмы действия хлорорганических соединений у водных животных (обзор) / П. А. Гдовский, Б. А. Флеров // Гидробиол. журн. – 1976. – 15, № 6. – С. 76-85.
4. Горбатюк Л. О. Фізіолого-біохімічна реакція рыб на дію пестицидів (огляд)/ Л. О. Горбатюк // Гидробиол. журн. – 2010. – Т. 46, № 2. – С. 83 – 94.
5. Жиденко А. А., Мехед О. Б., Бибчук Е. В. Зависимость показателей углеводного обмена в тканях карпа от воздействия гербицидов различной химической структуры // Біологія ХХІ століття: теорія, практика, викладання: Матеріали міжнар. наук. конф. – К.: Фітосоціоцентр, 2007. – С. 51 – 52.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
7. Ленинджер А. Л. Основы биохимии / А. Л. Ленинджер. – М.: Мир, 1985. – 368 с.
8. Лукьяненко В. И. Общая ихтиотоксикология / В. И. Лукьяненко. – М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. – 320 с.

9. *Мехед О. Б.* Вплив пестицидного забруднення водного середовища на іхтіологічні показники та метаболічні перетворення в організмі коропа: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 2005. – 20 с.
10. *Мехед О. Б.* Вплив гербіцидного забруднення водного середовища на вміст лактату, пірувату і активності ЛДГ та МДГ в тканинах коропа / О. Б. Мехед, Б. В. Яковенко // *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. Спец. вип. Гідроекологія.* – 2005. – № 3(26). – С. 302 – 303.
11. *Мехед О. Б.* Вплив зенкору на вміст глюкози та активність ферментів глікогонеогенезу в тканинах коропа лускатого (*Cyprinus carpio L.*) при різних температурах / О. Б. Мехед, Б. В. Яковенко, А. О. Жиденко // *Укр. біохім. журн.* – 2004. – Т. 76, № 3. – С. 110 – 113.
12. *Практикум по біохимии: [учеб. пособие]* / Под. ред. С.Е. Северина. – М: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
13. *Смирнова Н. Н.* Особенности аккумуляции биогенных элементов, тяжелых металлов и некоторых хлорорганических пестицидов высшими водными растениями в Килийской дельте Дуная // *Гидробиологические исследования Дуная и придунайских водоемов. Сб. науч. тр.* – Киев. Наук. думка, 1987. – С. 102 - 118.
14. *Хлебович В. В.* Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович. – Л.: Наука, 1981. – 135 с.
15. *Экологические аспекты токсичности азоловых пестицидов для гидробионтов* / Левина И. Л., Москвичев Д. В., Зинчук О. А. - Ростов н/Д: Медиополис, 2007. – 203 с.
16. *Bhatia S. C.* Effect of dieldrin on hepatic carbohydrate metabolism and protein biosynthesis in vivo / S. C. Bhatia, S. C. Sharma, T. A. Venkatasubramanian. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 1973. – Vol. 24, N 2. – P. 216 - 229.
17. *Cohen P.* Dissection of the protein phosphorylation cascades involved in insulin and growth factor action / P. Cohen // *Biochem. Soc. Transact.* – 1993. - N 21. - P. 555 - 567.
18. *Hems D. A.* Control of hepatic glycogenolysis / D. A. Hems, P. D. Whitton // *Physiol. Rev.* – 1980. - N 60. - P. 1 - 50.
19. *Hers H. D.* The control of glycogen metabolism in the liver/ H. D. Hers // *Ann. Rev. Biochem.* – 1976. – N 45. – P. 167 - 189.
20. *Roach P. J.* Glycogen synthase and glycogen synthase kinases / P. J. Roach // *Curr. Top. Cell. Regul.* - 1981. - N 20. - P. 45 - 105.
21. *Silbergeld E. K.* Blood glucose: a sensitive indicator of environmental stress in fish / E. K. Silbergeld // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* – 1974. – Vol. 11, N 1. – P. 20 - 25.

*М.О. Миронюк, В. О. Хоменчук, О. М. Арсан*

Інститут гідробіології НАН України, Київ

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, Україна

#### ВМІСТ ГЛІКОГЕНУ В ТКАНИНАХ КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) ЗА ВПЛИВУ ХЛОП- І ФОСФОРОРГАНІЧНИХ СПОЛУК

Визначено вміст глікогену в тканинах коропа за дії різних концентрацій хлор- (фіпроніл) та фосфорорганічних (диметоат) сполук. Встановлено, що при дії фіпронілу в концентрації 75 та 100 мкг/л вміст глікогену в печінці коропа зростає. Досліджені концентрації диметоату не впливають на вміст глікогену в тканинах риб.

*М.О. Mironyuk, V.O. Khomenchuk, O.M. Arsan*

Institute Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kiev

Ternopil Volodimir Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

#### THE CONTENT OF GLYCOGEN IN THE TISSUES OF CARP UNDER INFLUENCE OF ORGANOCHLORINE AND ORGANOPHOSPHOROUS COMPOUNDS.

Levels of glycogen in the tissues of carp under different concentration of organochlorine (fipronil) and organophosphorous (dimethoate) compounds were determined. It was shown that at the concentration of fipronil of 75 and 100 µg/L, the content of glycogen in the liver of carp increased. The investigated concentration of dimethoate did not effect on the content of glycogen in the tissues of fishes.

Рекомендує до друку

Надійшла 16.12.2010

О.Б. Столяр