

П.Д. Клоченко<sup>1</sup>, І.О. Медведь<sup>1</sup>, А.В. Калиновская<sup>1</sup>, Ю.В. Синюк<sup>2</sup>, О.В. Василенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут гідробіології НАН України, Київ

<sup>2</sup>Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, Україна

**ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И АЗОТИСТОГО ОБМЕНА У ПРСНОВОДНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИЯ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ**

Изучено влияние УФ-излучения на функционирование ключевых ферментов энергетического и азотного обмена у зеленых и синезеленых водорослей. Обнаружено ряд видоспецифических реакций, связанных с адаптационными перестройками в клетках водорослей при действии исследуемого стрессового фактора.

*Ключевые слова:* водоросли, УФ-облучение, сукцинатдегидрогеназа, АТФ-аза, каталаза, глутаматдегидрогеназа, нитратредуктаза

*P.D. Klochenko<sup>1</sup>, I.O. of Medved<sup>1</sup>, A.V. Kalinovska<sup>1</sup>, Yu.V. Sinyuk<sup>2</sup>, O.V. Vasilenko<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup> Ternopil National Volodymir Hnatiuk Pedagogical University, Ukraine

**FEATURES OF POWER AND NITRIC METABOLISM AT ALGAE AT ACTIONS OF UF-RADIATION**

Influence UV-radiation on functioning of key enzymes of a energy and nitrogen exchange at Chlorophyta and Cyanophyta is investigated. It is revealed a number of a type of specific reactions connected with adaptable restructurings in cells of algae at action of the investigated stressful factor.

*Key words:* algae, UF-radiation, succinate dehydrogenase, ATP-ase, catalase, glutamate dehydrogenase, nitratereductase

УДК [577.1: 574.64]

В.О. КОВАЛЬ, Б.В. ЯКОВЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г.Шевченка  
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14038, Україна

**ВПЛИВ КАТІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ, ФЕНОЛУ І АМІАКУ НА АКТИВНІСТЬ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГІДРОГЕНАЗИ В ПЕЧІНЦІ І М'ЯЗАХ КОРОПА В УМОВАХ ЗИМІВЛІ**

Зміни активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в організмі коропа залежать від природи токсичної речовини: поллютанти неорганічної природи (аміак і іони важких металів) збільшують активність цього ферменту, а фенол пригнічує її. В середині зимівлі відповідь організму (зміна активності ферменту) на дію токсичних речовин найменша, оскільки зниження температури води маскує токсичний ефект.

*Ключові слова:* важкі метали, фенол, аміак, короп, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

На якісні зміни у складі водного середовища риби реагують залежно від систематичного положення, філогенетичного рівня, віку, статі, функціонального стану, вмісту кисню у воді, температури та багатьох інших факторів. Реакція гідробіонтів на вплив токсичних речовин виявляється на генному, хромосомному, клітинному, тканинному, організмовому та надорганізмовому рівнях. Основні дослідження з впливу токсичних речовин на організм риб спрямовані на вивчення накопичення токсичних речовин в тканинах і органах [4, 12] та виявлення морфологічних [6, 9] і біохімічних [1–3] змін за їх дії. Морфологічні спостереження найчастіше проводили на зябрах, оскільки вони безпосередньо контактують з токсичними речовинами [13], або на органах, що нейтралізують токсиканти – печінка, нирки [9]. Як біохімічні об'єкти найчастіше використовували кров [5] та печінку [1, 3, 8] риб. В них досліджували як активність ферментів (лужної фосфатази, ліпаз, глутамінсинтетази, аспартатамінотрансферази), так і вміст метаболітів (лактату, пірувату, АТФ, АДФ, амінокислот).

Метою роботи було дослідження активності глюкозо–6–фосфатдегідрогенази за токсичної дії та під час зимового голодування.

**Матеріал і методи досліджень**

Дослідження проводили в лабораторних умовах на дворічках коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) масою 200–250 г. Риб витримували в 200-літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою з розрахунку 1 екземпляр на 40 дм<sup>3</sup> води за стандартного газового і гідрохімічного режимів. Величина рН змінювалась в межах 7,6–7,8; вміст кисню – 7,0–8,0 мг/дм<sup>3</sup>; диоксиду вуглецю – 2,2–2,8 мг/дм<sup>3</sup>. Температуру води підтримували близькою до природної в залежності від пори року. Дослідження проводились тричі: початок зимового голодування – жовтень–листопад; середина голодування – січень–лютий; кінець зимівлі – березень–квітень. Під час експерименту рибу не годували.

Вивчався вплив аміаку, фенолу, іонів марганцю, цинку, міді та свинцю на організм коропа лускатого у кількості, що відповідає 2 рибогосподарським гранично допустимим концентраціям (ГДК). Умови інтоксикації моделювали внесенням у воду буферної суміші NH<sub>4</sub>OH+NH<sub>4</sub>Cl; фенолу; відповідних солей металів – MnCl<sub>2</sub>×4H<sub>2</sub>O, ZnSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O, CuSO<sub>4</sub>×5H<sub>2</sub>O, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Період аклімації становив 14 діб.

Для дослідження використовували цитоплазматичні фракції білих м'язів спини та передньої частки печінки. Визначення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази здійснювали спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм. Інкубаційне середовище містило: 0,1М К<sup>+</sup>–фосфатного буферу, рН 7,6; 35 мМ розчину глюкозо–6–фосфату; 11мМ NADP<sup>+</sup>. Активність виражали в мкмоль NADPH/мг білку за хв.

Усі результати були оброблені статистично за Ойвінім І.А. [10]. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при \* – P<0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення**

Аналіз результатів дослідження показав (табл. 1), що перетворення глюкози з участю досліджуваного ферменту на початку зимівлі в печінці та білих м'язах коропа відбувається практично з однаковою швидкістю (0,09±0,02 мкмоль NADP/мг білку за хв. та 0,06±0,01 мкмоль NADP/мг білку за хв. відповідно).

Таблиця 1

Активність глюкозо–6–фосфатдегідрогенази в печінці і білих м'язах коропа в різні періоди зимового голодування, мкмоль NADP/мг білку за хв. (M ± m, n = 5)

| Період дослідження | Печінка     | М'язи         |
|--------------------|-------------|---------------|
| Початок зимівлі    | 0,09 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01   |
| Середина зимівлі   | 0,15 ± 0,03 | 0,02 ± 0,014* |
| Кінець зимівлі     | 0,45 ± 0,04 | 0,07 ± 0,02*  |

Примітка. \* – відмінності вірогідні відносно показника печінка–білі м'язи.

Надалі в печінці поступово збільшується активність досліджуваного ферменту до 0,15±0,03 мкмоль NADH/мг білку за хв. У м'язовій тканині, навпаки, спостерігається вірогідне зменшення активності Г-6-ФДГ (p<0,05). В кінці зимового голодування в обох тканинах активність ферменту зростала практично в 3 рази порівняно з серединою зимівлі. Це пояснюється різким підвищенням температури водного середовища. Варто зазначити, що перетворення глюкози пентозофосфатним шляхом (ПФШ) в середині і кінці зимівлі в цитоплазматичній фракції печінки коропа відбувається набагато інтенсивніше, ніж в білих м'язах. Відомо, що однією з функцій ПФШ є утворення відновленого НАДФН+Н<sup>+</sup> за участю Г-6-ФДГ. Відновлений НАДФН+Н<sup>+</sup> використовуються у біосинтезі жирів. Останні необхідні організму риб не лише як джерело енергії, а й для біосинтезу глюкози, зокрема в період зимового голодування.

Результати експерименту щодо впливу токсичних речовин на активність Г–6–ФДГ-зи показано в таблицях 2 та 3. При дії аміаку спостерігається збільшення активності цього ферменту як у м'язовій тканині, так і в печінці протягом всієї зимівлі. Однак, у м'язах ці зміни були менш істотні, ніж в печінці.

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в печінці і білих м'язах коропа за інтоксикації аміаком і фенолом протягом зимового голодування, мкмоль NADP/мг білку за хв.

( $M \pm m, n = 5$ )

| Період дослідження | Печінка     |              | М'язи        |             |
|--------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
|                    | Контроль    | Дослід       | Контроль     | Дослід      |
| Аміак              |             |              |              |             |
| Початок зимівлі    | 0,09 ± 0,02 | 0,16 ± 0,01* | 0,06 ± 0,01  | 0,08 ± 0,01 |
| Середина зимівлі   | 0,15 ± 0,03 | 0,19 ± 0,02  | 0,02 ± 0,01  | 0,03 ± 0,01 |
| Кінець зимівлі     | 0,45 ± 0,04 | 0,59 ± 0,02* | 0,07 ± 0,02  | 0,10 ± 0,02 |
| Фенол              |             |              |              |             |
| Початок зимівлі    | 0,09 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01* | 0,06 ± 0,01  | 0,04 ± 0,01 |
| Середина зимівлі   | 0,15 ± 0,03 | 0,11 ± 0,02  | 0,020 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 |
| Кінець зимівлі     | 0,45 ± 0,04 | 0,52 ± 0,02  | 0,07 ± 0,02  | 0,04 ± 0,02 |

Примітка: \* – відмінності вірогідні відносно показнику контроль–дослід.

При дії водного середовища, яке містило фенол, відповідь організму риб була протилежною: активність глюкозо–6–фосфатдегідрогенази зменшувалася (табл. 2). На початку зимового голодування активність ферменту в печінці коропа пригнічувалась на 66%, в середині зимівлі всього на 27%, навесні, навпаки, – зростала. У м'язовій тканині спостерігається лише тенденція до зменшення активності ферменту.

Іони металів активують глюкозо–6–фосфатдегідрогеназу (табл. 3).

Активність глюкозо–6–фосфатдегідрогенази в печінці і білих м'язах коропа за інтоксикації іонами важких металів протягом зимового голодування, мкмоль NADP/мг білку за хв.

( $M \pm m, n = 5$ ).

| Важкі метали | Печінка     |              | М'язи       |             |
|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
|              | Контроль    | Дослід       | Контроль    | Дослід      |
| Манган       | 0,09 ± 0,02 | 0,17 ± 0,02* | 0,06 ± 0,01 | 0,09 ± 0,02 |
| Свинець      | 0,15 ± 0,03 | 0,20 ± 0,02  | 0,02 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 |
| Мідь         | 0,45 ± 0,04 | 0,61 ± 0,03* | 0,07 ± 0,02 | 0,09 ± 0,01 |
| Цинк         | 0,45 ± 0,04 | 0,53 ± 0,04  | 0,07 ± 0,02 | 0,11 ± 0,02 |

В печінці реакція ферменту була максимальною за дії іонів марганцю і міді. Показник активності збільшувався на 188% і 135% відповідно. У білих м'язах на активність досліджуваного ферменту найбільший вплив виявили іони цинку.

### Висновки

Зміни активності глюкозо–6–фосфатдегідрогенази в організмі коропа залежать від природи токсичної речовини: полютанти неорганічної природи (аміак і іони важких металів) збільшують активність ферменту, а фенол пригнічує. Аналіз отриманих результатів засвідчує, що в середині зимівлі відповідь організму (зміна активності глюкозо–6–фосфатдегідрогенази) на дію токсичного середовища найменша. Це можна пояснити тим, що зниження температури води маскує токсичний ефект.

1. Арсан В.О. Энергозабеспечения организма коропа при адаптации до змін концентрацій іонів важких металів у водному середовищі : автореф. дис. ... канд.біол.наук. 03.00.17 "Гідробіологія"/ В.О.Арсан. — Київ, 2004. – 18 с.
2. Голованова И.Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных / И.Л. Голованова // Биол. внутр. вод. – 2008. – № 1. – С. 99–108.
3. Евтушенко Н.Ю. Влияние тяжелых металлов водной среды на содержание нуклеиновых кислот и активность нуклеаз некоторых органов и тканей производителей карпа в репродуктивный период / Н.Ю. Евтушенко,



- А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский // Вторая всес. конф. по рыб-хоз. токсикологии. Тез. докл. – С.-Петербург, 1991. – Т. 1. – С. 177–178.
4. *Забитівський Ю.М.* Динаміка накопичення міді у лусці, зябрах і кишківнику коропа / *Забитівський Ю.М., Савицька О.М.* // Науковий вісник Льв. ун-ту. – 2003. – Вип. 13, № 5. – С. 263–271.
  5. *Зінківська Н.Г.* Функціонування антиоксидантних систем у крові риб при інтоксикації йонами міді, цинку, марганцю і свинцю : автореф. дис. ... канд. біол. наук. 03.00.04 “Біохімія” / Н.Г.Зінківська. – Чернівці, 2003. – 21 с.
  6. *Красюк Ю.Н.* Изменение физиологического состояния карпов под действием соединений минерального азота / *Красюк Ю.Н., Худияш Ю.Н.* // Совр. проблемы физиол. и биохим. водных организмов. – Петрозаводск, 2007. – С. 75–76.
  7. *Лобойко Ю.В.* Еколого-цитогенетичний моніторинг при вирощуванні коропа в рибницьких ставах : автореф. дис... канд. с.-г. наук / Ю.В. Лобойко. – Київ, 2002. – 19 с.
  8. *Мехед О.Б.* Активність ключових ферментів вуглеводного обміну в організмі коропа лускатого в умовах токсикозу / *Мехед О.Б., Яковенко Б.В.* // Вісник проблем біології і медицини. – 2003. – Вип. 6. – С. 20–24.
  9. *Назарова Е.А.* Экологическая пластичность структуры ренальной ткани пресноводных и морских костистых рыб : автореф. дис... канд. биол. наук / Е.А. Назарова. – Борок, 2009. – 23 с.
  10. *Ойвин П.А.* Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / *И.А. Ойвин* // Патол. физиол. и exper. терапия. – 1960. – № 4. – С. 76–85.
  11. *Русинова О.С.* Сезонные изменения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в тканях рыб с разными эколого-физиологическими особенностями / *О.С.Русинова* // Журн. эволюц. биохим. и физиол. – 1988. – Т. 34, № 5. – С. 549–554.
  12. *Ситник Ю.М.* Вміст важких металів в органах і тканинах канального сомика (*ICTALURUS PUNCTATUS RAFINESQUE*, 1818) Ташлицької водойми – охолоджувача Південно-Української АЕС / *Ю.М. Ситник, П.Г. Шевченко, Н.В. Олексієнко* // Рибне госп-во. – 2009. – Вип. 67. – С. 230–236.
  13. *Третьяк Л.П.* Патоморфологическое исследование состояния жаберного аппарата *Salmo trutta labrax* Pallas под влиянием хронической интоксикации / *Л.П.Третьяк* // Совр. аспекты экологии и экологического образования. – Назрань, 2007. – С. 136–139.

*В.А. Коваль, Б.В. Яковенко*

Черниговский национальный педагогический университет им. Т.Г. Шевченко, Украина

**ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ, ФЕНОЛА И АММИАКА НА АКТИВНОСТЬ ГЛЮКОЗО–6–ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЕЧЕНИ И МЫШЦАХ КАРПА В УСЛОВИЯХ ЗИМОВКИ**

Изменение активности глюкозо–6–фосфатдегидрогеназы в организме карпа зависит от природы токсического вещества: поллютанты неорганической природы (аммиак и ионы тяжелых металлов) увеличивают активность фермента, а фенол угнетает. В середине зимовки ответ организма (изменение активности фермента) на действие токсичных веществ минимален, поскольку температура воды маскирует токсический эффект.

*Ключевые слова: тяжелые металлы, фенол, аммиак, карп, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа*

*V.A. Koval, B.V. Yakovenko*

Chernihiv National Taras Shevchenko Pedagogical University, Ukraine

**INFLUENCE OF HEAVY METALS, PHENOL AND AMMONIA ON ACTIVITY OF GLUKOSO–6–PHOSPHATEDEHYDROGENASE IN LIVER AND MUSCLES OF CARP IN THE CONDITIONS OF WINTERING**

A change to activity of glukoso–6–phosphatedehydrogenase in the organism of carp depends on nature of toxic matter: pollutants of inorganic nature (ammonia and ions of heavy metals) increase activity of enzyme, and a phenol oppresses. In the middle of wintering the answer of organism for the action of toxic matters is minimum, as a temperature of water masks a toxic effect.

*Key words: heavy metals, phenol, ammonia, carp, glukoso–6–phosphatedehydrogenase*