

УДК [574.64+591.3]:597.54.3

О.Б. Мехед, Б.В.Яковенко, Ю.В.Дейнеко

Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка,
вул. Гетьмана Полуботка, 53, м.Чернігів, 14013, Україна

ВПЛИВ ТОКСИКОЗУ ГЕРБІЦИДОМ РАУНДАП НА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ КАТАБОЛІЧНИХ ФЕРМЕНТІВ В ТКАНИНАХ КОРОПА

У результаті токсикозу гербіцидом раундап в організмі коропа лускатого дворічного віку спостерігались зміни активності ферментів різних шляхів катаболічного обміну (лактатдегідрогеназа, ізоцитратдегідрогеназа та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа). Відмічено активацію процесів катаболізму в печінці та зябрах коропа при інтоксикації раундапом, у мозку риб спостерігалось пригнічення активності ферментів.

Ключові слова: *короп, раундап, лактатдегідрогеназа, ізоцитратдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа.*

Серед органічних речовин, що викликають явно виражений токсикоз у риб, особливе місце посідають пестициди, широке використання яких у сільському господарстві зумовлює вивчення характеру особливостей надходження, розподілу, накопичення пестицидів в органах та тканинах, біохімічних змін в результаті отруєння, що може бути використане для пояснення механізмів адаптації риб до токсикантів, виявлення причин загибелі гідробіонтів у природних водоймах та обґрунтування методів контролю забруднення навколишнього середовища. Дослідженню шляхів та джерел потрапляння пестицидів до природних і штучних водойм, а також шляхів їх міграції присвячено багато робіт як вітчизняних, так і закордонних дослідників [3, 5, 8, 10, 11]. Відмінною особливістю пестицидів є неможливість припинення їхньої циркуляції, переміщення на значні відстані від місць застосування, а також здатність до накопичення у вигляді стійких сполук у об'єктах навколишнього середовища [4, 18]. За даними дослідників [12, 16, 20] пестициди акумулюються практично всіма ланками трофічного ланцюга, максимальна концентрація їх метаболітів зареєстрована на верхньому трофічному рівні екологічної піраміди, а зокрема у жировій тканині риб та в жировій і нервовій тканинах птахів, що мешкають біля водойм. Для оцінки фізіологічного стану риб

під впливом найрізноманітніших чинників середовища останнім часом широко використовують різні групи біохімічних показників [9], оскільки, застосовуючи біохімічні методи, і, зокрема, методи ензимоіндикації, можна визначити ступінь інтоксикації на самих ранніх стадіях токсичної дії, задовго до загибелі [11].

Метою роботи було дослідити вплив гербіцидного токсикозу на активність даного ферменту в різних тканинах коропа (білі м'язи, печінка, мозок, зябра).

Матеріали і методи. Дослідження проводились у листопаді 2005 року на дворічках коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) масою 200-250 г. Риб групами по 5 тварин утримували протягом 14 діб у акваріумах об'ємом 200 л. Одна група була контрольною, а другій у воду додавали гербіцид раундап. Риб не годували. В усіх випадках здійснювали контроль і підтримували постійний гідрохімічний режим води. Величина рН складала $7,30 \pm 0,27$; вміст кисню – $5,6 \pm 0,4$ мг/л, температуру витримували близько до природної. За даними іхтіопатологічних спостережень на рибах нашкірних збудників паразитичних хвороб не виявлено. Ствожкові паразитів також не зафіксовано. Концентрацію раундапу ($0,004 \text{ мг/дм}^3$, що відповідає 2 ГДК) створювали шляхом внесення 3%-вого водного розчину раундапу.

З метою визначення активності ферментів гомогенат тканин готували на 0,25М сахарозі у співвідношенні 1:10. Ядра, мітохондрії та мікросоми виділяли за загальноприйнятими методиками [19] з урахуванням деяких особливостей фракціонування гомогенатів тканин риб [1, 15]. З метою встановлення рівнів активності ферментів енергетичного обміну досліджували активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) у цитоплазматичній фракції, активність ізоцитратдегідрогенази (ІЦДГ) – у мітохондріальній фракції загальноприйнятими методами [13, 14]. Виділення мітохондрій здійснювали по методиці [2] додатково очищували центрифугуванням у градієнті густини сахарози 0,32-1,2М в горизонтальному роторі при 75000 g протягом 60 хвилин при $+4^\circ\text{C}$. Вміст білку в ферментативних препаратах визначали за методом Лоурі і спіавт. [17]. Усі результати були оброблені статистично за Ойвіним І.А. [7]. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при * – $P < 0,05$. Кореляційний аналіз та однофакторний дисперсійний аналіз проводили згідно методичних рекомендацій [6].

Результати та їх обговорення. Результати експерименту по вивченню токсичного впливу раундапу свідчать, що ЛДГ білих м'язів та печінки у коропа на пестицидне забруднення відповідала незначним збільшенням активності (рис. 1), що становило відповідно (7% та 4,5%).

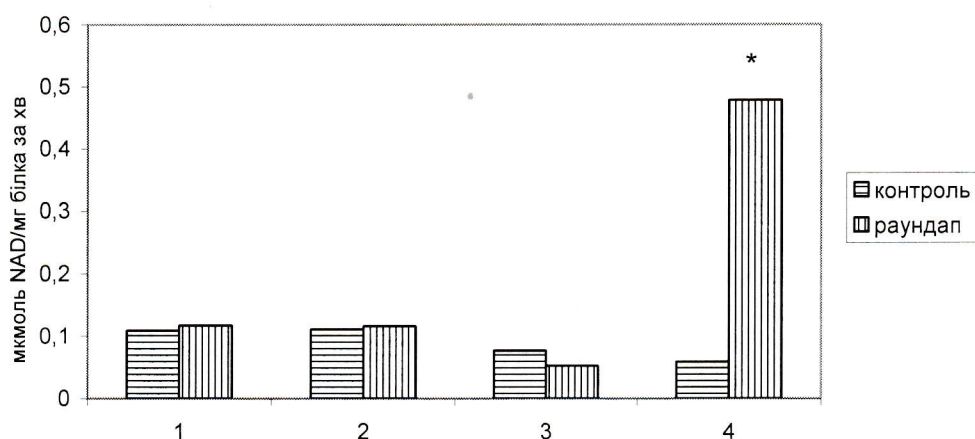


Рис. 1. Активність ЛДГ в тканинах коропа в умовах токсикозу ($M \pm m$, $n=5$):
1 – білі м'язи; 2 – печінка; 3 – мозок; 4 – зябра

У мозку риб, які перебували під дією гербіциду, навпаки, спостерігалось пригнічення активності даного ферменту, що становить 45% від значення у контролі, однак відмінності показників не вірогідні. Найбільших змін в результаті токсикозу зазнала активність ЛДГ зябер. У риб експериментальної групи відмічене збільшення її у 8,1 разів порівняно з контрольною групою ($0,478 \pm 0,083$ в умовах гербіцидного навантаження і $0,059 \pm 0,010$ мкмоль NAD/мг білка за хвилину в фізіологічних умовах, $P \leq 0,01$).

Адаптація риб до змін умов навколишнього середовища призводить до змін внутрішньоклітинних біоенергетичних процесів, що виражається у інтенсивності генерування енергії. Інформація про стан активності ферментів ЦТК, як одного з шляхів енергозабезпечення організму, наряду з вивченням змін концентрації метаболітів, необхідна для всебічного пояснення шляхів забезпечення адаптації коропа до дії токсикантів. Застосований гербіцид суттєво змінював активність ІЦДГ в тканинах риб (рис. 2).

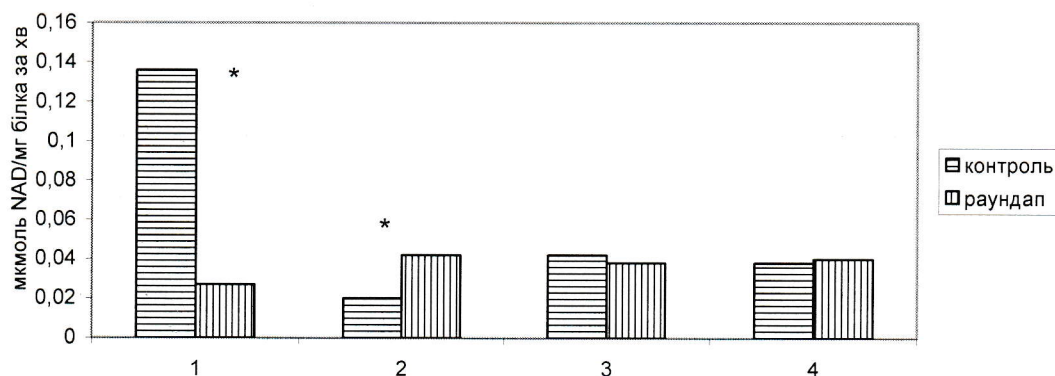


Рис. 2. Активність ІЦДГ в тканинах коропа в умовах токсикозу ($M \pm m$, $n=5$): 1 – білі м'язи; 2 – печінка; 3 – мозок; 4 – зябра

У м'язах та мозку дворічного коропа у відповідь на дію раундапу ІЦДГ зменшувала свою активність, однак у різному ступені: зміни активності ферменту у мозку не вірогідні ($0,042 \pm 0,008$ у контролі та $0,038 \pm 0,004$ мкмоль NADP/мг білка за хвилину в умовах токсикозу) на відміну від білих м'язів, де спостерігається пригнічення активності у 5 разів ($0,136 \pm 0,030$ проти $0,027 \pm 0,002$ мкмоль NADP/мг білка за хвилину в токсичних умовах, $P \leq 0,001$). У печінці риб, що перебували в акваріумі з раундапом, відмічена вірогідна активація дії НАДФ-залежної ізоцитратдегідрогенази у 2,1 рази порівняно з ферментом печінки риб контрольної групи ($P \leq 0,001$).

Відомо, що однією з функцій пентозо-фосфатного шляху є утворення відновлених форм НАДФН+H⁺ за участю Г-6-ФДГ. Відновлені НАДФН+H⁺ далі використовуються у біосинтезі жирів. Останні необхідні організму риб не лише як джерело енергії, а також для біосинтезу глюкози, зокрема в період зимового голодування, коли даний моносахариди відсутній у навколишньому середовищі в період зимовки. У коропа відмічались суттєві зміни активності Г-6-ФДГ при пестицидному забрудненні, про що свідчить рис. 3.

Г-6-ФДГ досліджуваних тканин по-різному реагувала на пестицидне забруднення середовища: у білих м'язах, печінці та зябрах відмічене вірогідне збільшення активності ферменту відповідно у 2,9 рази ($P \leq 0,001$), 1,3 рази ($P \leq 0,005$) та у 6,4 рази ($P \leq 0,001$) та пригніченням дії Г-6-ФДГ у мозку ($0,069 \pm 0,007$ у контролі та $0,030 \pm 0,008$ мкмоль NADP/мг білка за хвилину у риб експериментальної групи, $P \leq 0,01$).

Таким чином можна стверджувати про активацію процесів катаболізму в печінці та зябрах коропа при інтоксикації раундапом, що пояснюється енергетичними детоксикаційними процесами та процесами виведення гербіциду чи його метаболітів з орга-

нізму через зябра. У мозку, на відміну від інших досліджуваних тканин, спостерігалось пригнічення активності ферментів.

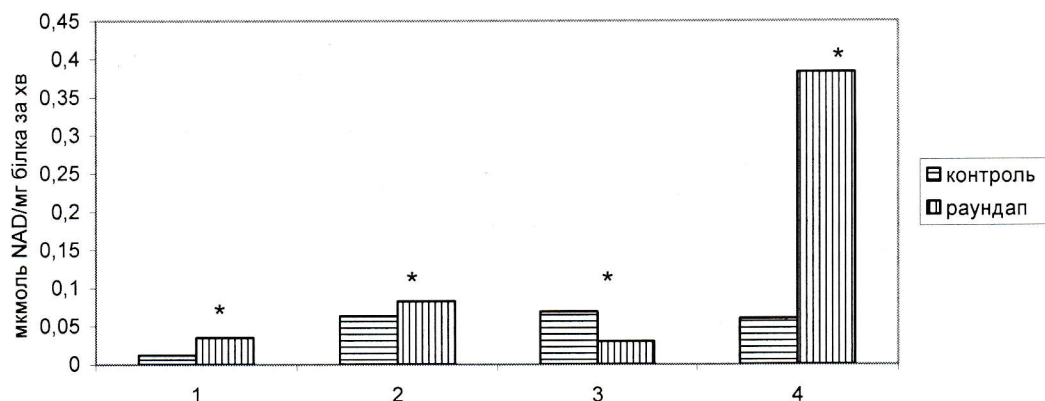


Рис. 3. Активність γ -6-ФДГ в тканинах коропа в умовах токсикозу ($M \pm m$, $n=5$): 1 – білі м'язи; 2 – печінка; 3 – мозок; 4 – зябра

Висновки. Проведені дослідження можуть бути доказом адаптивних перебудов обміну речовин, направлених на виживання риб в умовах токсикозу, спричиненого раундапом. Найбільш чутливим до дії токсикантів можна вважати фермент γ -6-ФДГ, найменш – ЛДГ. Підвищення активності катаболічних ферментів може забезпечувати вихідними субстратами анаболічні процеси, енергією адаптацію гідробіонтів до дії токсикантів або виведення останніх чи їх метаболітів з організму риб. Тому доречним буде визначення рівня накопичення даного токсиканту в різних тканинах риб, кількісне вивчення метаболітів процесів катаболізму та активності ферментів анаболічних процесів.

О.Б. Мехед, Б.В. Яковенко, Ю.В. Дейнеко

Черниговский государственный педагогический университет имени Т.Г.Шевченко,
ул. Гетьмана Полуботко, 53, г.Чернигов, 14013, Украина

ВЛИЯНИЕ ТОКСИКОЗА ГЕРБИЦИДОМ РАУНДАП НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ КАТАБОЛИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ КАРПА

Исследованы изменения активности ферментов различных путей катаболизма (лактатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы) в организме двухлеток карпа как следствие токсикоза гербицидом раундап. В печени и жабрах отмечена активация процессов катаболизма, в отличие от мозга, где наблюдалось угнетение активности вышеуказанных ферментов.

Ключевые слова: карп, раундап, лактатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

**THE INFLUENCE OF THE RAUNDUP HERBICIDE-TRIGGERED TOXICOSIS
ON SOME CATABOLISTIC ENZYMES' ACTIVITY
IN THE CARP'S ORGANISM**

Herbicide roundup-triggered toxicosis changes some catabolistic enzymes' activity in carp's organism (lactate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase). It has been clarified that toxicity promotes the activity of catabolistic processes in fish's liver and gills and oppresses enzymes activity in brain.

Key words: *carp, roundup, lactate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase.*

1. *Арсан О.М.* Роль температуры водной среды в регуляции процессов гликолиза и трикарбонового цикла в организме рыб // Гидробиол. журн. – 1986. – Т. 22, №3. – С.57-62
2. *Зинич В.Н.* Метод измерения 2-оксиглутаратдегидрогеназной активности интактных митохондрий // Укр. биохим. журн. – 1986. – Т.58, №2. – С.73-77.
3. *Ібрагімова Є.Є.* Метод оцінки екологічної небезпеки деяких пестицидів // Тез. доп. І Міжнар. конф. студ. та аспір. “Молодь і поступ біології”. – Львів: Сполом, 2005. – С.192-193.
4. *Іванов А.А.* Результаты мониторинга загрязнения рыбы и рыбопродуктов пестицидами // Здоровье населения и среда обитания. – 1999. – №11. – С.19-21.
5. *Куценкогий К.П.* Экспериментальное и теоретическое исследование распространения и осаждения аэрозолей на растительность и почву // Тр. сов.-амер. симп. “Поведение пестицидов и химикатов в окружающей среде” / Под ред. М.А.Новицкого. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1991. – С.53-75.
6. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа. – 1990. – 352 с.
7. *Ойвин И.А.* Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол.физиол.и экспер. терап. – 1960. – №4 – С.76-85.
8. *Плиммер Дж.* Рассеяние пестицидов в окружающей среде / Поведение пестицидов и химикатов в окружающей среде // Тр. сов.-амер. симп. “Поведение пестицидов и химикатов в окружающей среде” / Под ред. М.А.Новицкого. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1991. – С.126-138.
9. *Сидоров В.С.* Использование биохимических показателей для оценки физиологического состояния рыб под влиянием различных факторов среды // Тез. докл. Всерос. симпоз. “Возрастная и экологическая физиология рыб”. – Борок: Изд-во БВВР РАН, 1998. – С. 96-97.
10. *Скрипник В.О., Годлевська О.О.* Позитивний та негативний вплив пестицидів // Тез. доп. II Міжнар. конф. студ. та аспір. “Молодь та поступ біології”. – Львів: Видавничий центр ЛНУ. – 2006. – С.222-223.
11. *Филатова Г.А.* Методические аспекты рыбохозяйственной регламентации пестицидов, применяемых для авиационной обработки пойменных лесов // Осн. пробл. рыб. х-ва и охраны рыбохоз. водоёмов Азов. бассейна. – Ростов-на-Дону: АзовНИИ рыб. х-ва, 1996. – С. 54-56.
12. *Barlas N.E.* Determination of organochlorine pesticide residues in aquatic systems and organisms in Upper Sakarya Basin Turkiye // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1999. – Vol. 62, №3. – P. 278-285.
13. *Biochemica information.* – W.-Germany: BoehringerMannheim GmbH, Biochemica, 1975. – Bd.1. – P. 99-100.

14. Biochemica information. – W.-Germany: BoehringerMannheim GmbH, Biochemica, 1975. – Bd.2. – 167 p.
15. Casey C.A., Anderson P.M. Subcellular location of glutamine syntetase and urea cycle enzymes in liver of Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*) // J. Biol. Chem. – 1982. – V.257, №14. – P. 8449-8453.
16. Focardi S., Fossi C., Leonzio C., Corsolini S., Parra O. Persistent organochlorine pesticide residues in fish and water birds from the Biobio River, Chile // Environ. Monit. and Assess. – 1996. – V.43, №1. – P.73-92.
17. Lowry O.H., Rosebrough N.I. Farr A.I., Rendall R.I. Determination of inorganic phosphate in the present of labeling ester // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, №1. – P.265-275.
18. Monirith In, Nacata Haruhico, Tanabe Shinsuke, Tana Touch Seang. Persistent organochlorine residues in marine and freshwater fish in Combodia // Mar. Pollut. Bull. – 1999. – V.38, №7. – P.604-612.
19. Schachman H.K. Ultracentrifugation in Biochemistry. – New York: Acad. Press., 1959. – 356 p.
20. Tsuda T., Kojima M., Harada H., Nakajima A., Aoki S. Pesticides and their oxidation products in water and fish from rivers flowing into Lake Biwa // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1998. – V.60, №1. – P.151-158.