

УДК 574.64:(577.12:597.551.2)

В.Д. РОМАНЕНКО¹, В.О. АРСАН².

¹Інститут гідробіології НАН України
пр. Героїв Сталінграду, 12, Київ, 04210

²Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041

ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПРОЦЕСІВ АДАПТАЦІЇ РИБ ДО ЗМІН КОНЦЕНТРАЦІЇ ЙОНІВ МАРГАНЦЮ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

Наведено результати досліджень щодо дії різних концентрацій йонів марганцю (5, 20, 50 і 100 мкг/дм³) водного середовища на вміст ЩОК, малату та α -кетоглутарату в печінці, зябрах і м'язах коропа.

Показано залежність вмісту щавлево-оцтової кислоти (ЩОК), малату та α -кетоглутарату від концентрації йонів марганцю водного середовища. За концентрацій йонів марганцю 5-50 мкг/дм³ в тканинах риб рівень ЩОК і малату росте, а при 100 мкг/дм³ – знижується. Вміст α -кетоглутарату при 20 мкг/дм³ не змінюється, при 50 мкг/дм³ - знижується, а при 100 мкг/дм³ - зростає.

Ключові слова: короп, ЩОК, малат, α -кетоглутарат, гліколіз, аеробне дихання

Відомо, що йони марганцю водного середовища, накопичуючись в тканинах риб [10], впливають на вміст пірувату і лактату [2] та беруть активну участь в регуляції енергетичного обміну в їх організмі [8]. Однак щодо впливу йонів марганцю на метаболіти трикарбонового циклу в організмі риб, інформація відсутня. У зв'язку з цим, метою досліджень було виявлення змін вмісту ЩОК, малату та α -кетоглутарату в тканинах коропа за дії різних концентрацій йонів марганцю водного середовища.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили на коропі (*Cyprinus carpio* L.), які були вирощені на Білоцерківській гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Умови проведення дослідів описано в [2].

Для дослідження використовували печінку, зябра та м'язи риб, які заморожували в рідкому азоті, розтирали в порошок.

Вміст щавлево-оцтової кислоти (ЩОК), α -кетоглутарату, малату визначали загальноприйнятими ферментними методами [14, 12, 13] та виражали в мкмольях на 100 г сирової тканини.

Отримані результати оброблено статистично на комп'ютері з застосуванням відповідної методики та t-критерію Стьюдента [6].

Результати досліджень та їх обговорення

В результаті досліджень встановлено, що за дії на коропа протягом 14 діб йонів марганцю в концентрації 5 мкг/дм³ в печінці, зябрах і м'язах коропа збільшується кількість ЩОК (відповідно на 29,0; 38,9 і 39,4%)(табл. 1), малату (відповідно на 14,0; 45,2 і 27,6%) (табл. 2), α -кетоглутарату (відповідно на 44,2; 84,7 і 55,4%)(табл. 3) порівняно з контролем. При цьому, як було показано [2] вміст лактату зменшується. Такі зміни величини показників свідчать про посилення функціонування в цих умовах в тканинах риб аеробного шляху генерування енергії (циклу трикарбонових кислот) і пригнічення гліколізу.

Таблиця 1

Вміст ЩОК (мкмоль/100г) в тканинах коропа за дії йонів марганцю водного середовища (M \pm m, n=5)

Концентрація йонів марганцю, мкг/дм ³	ПЕЧІНКА	ЗЯБРА	М'ЯЗИ
Контроль	5,38 \pm 0,67	4,40 \pm 0,67	3,91 \pm 1,03

БІОХІМІЯ

5	6,94±0,68	6,11±1,39*	5,45±0,68*
20	8,93±1,36	8,14±1,45	6,94±0,68
50	9,42±1,41	8,65±1,39	8,18±1,11
100	3,71±1,26*	3,31±1,14*	3,06±0,79

Таблиця 2

Вміст малату (мкмоль/100г) в тканинах коропа за дії йонів марганцю водного середовища
(M±m, n=5)

Концентрація йонів марганцю, мкг/дм ³	ПЕЧІНКА	ЗЯБРА	М'ЯЗИ
Контроль	7,78±0,66	5,84±1,02	4,86±0,86
5	8,87±1,03*	8,48±1,37*	6,20±1,24
20	10,60±1,10	9,48±0,68*	7,94±1,41*
50	13,30±1,35	10,98±1,37	8,43±1,36*
100	4,69±1,03	4,24±1,11	3,34±0,79

Таблиця 3

Вміст α-кетоглутарату (мкмоль/100г) в тканинах коропа за дії йонів марганцю водного середовища (M±m, n=5)

Концентрація йонів марганцю, мкг/дм ³	ПЕЧІНКА	ЗЯБРА	М'ЯЗИ
Контроль	4,82±0,77	3,34±0,51	2,78±0,66
5	6,95±1,26	6,17±1,10*	4,32±0,84
20	5,21±0,86*	8,48±1,06	5,64±1,15*
50	3,71±0,93*	9,64±1,36	7,14±1,07
100	12,77±1,57	12,33±1,06	8,64±1,02

Це підтверджується не тільки значним зростанням активності цитохромоксидази в печінці, зябрах і м'язах [1], але й відношенням вільних НАД⁺/НАДН в цитоплазмі клітин цих тканин [2].

Необхідно зауважити, що за дії на риб підвищених (20 мкг/дм³) концентрацій йонів марганцю водного середовища подібні зміни стануть значнішими. За таких умов в печінці, зябрах і м'язах коропа відмічено зростання рівня ЩОК (відповідно на 66,0; 85,0 і 77,5%)(табл. 1), малату (відповідно на 36,2; 62,3 і 63,4%)(табл. 2) порівняно з контролем. Поряд з цим зменшується вміст лактату [2]. Наведені результати дають підставу говорити про те, що енергозабезпечення адаптації риб до таких умов здійснюється, в основному, за рахунок аеробних процесів, оскільки роль гліколізу при цьому значно послаблена. На користь даного твердження свідчить також і зростання співвідношення нікотинамідних коферментів в тканинах риб, які характеризують їх окисну здатність [2].

Щодо α-кетоглутарату, то за дії на риб йонів марганцю в концентрації 20 мкг/дм³ його вміст у зябрах і м'язах підвищується відповідно на 153,9 і 102,9% по відношенню до контролю, а в печінці не змінюється (табл. 3).

Найістотніші зміни величин досліджуваних показників спостерігаються в тканинах за дії 50 мкг/дм³ йонів марганцю водного середовища. При цьому в печінці, зябрах і м'язах риб значно зростає рівень ЩОК (відповідно на 75,1; 96,6 і 109,2%)(табл. 1), малату (відповідно на 70,9; 88,0 і 73,4%)(табл. 2) відносно контролю. Крім того, за таких умов знижується вміст лактату [2]. Одержані результати свідчать про посилення ролі циклу трикарбонових кислот, та пригнічення гліколізу. Це підтверджується, зокрема, зростанням в печінці, зябрах і м'язах риб співвідношення вільних нікотинамідних коферментів [2].

Водночас, при адаптації риб впродовж 14 діб до 50 мкг/дм³ йонів марганцю водного середовища в печінці вміст α-кетоглутарату, на відміну від зябер та м'язів, в яких його рівень підвищується відповідно на 188,6 і 156,8%, знижується (на 23,0%) відносно контролю (табл. 3). Це можна пояснити посиленням переамінування аланіну і аспартату з α-кетоглутаратом, в результаті чого утворюється глутамат і піруват та ЩОК. Про наявність такого процесу дозволяє судити збільшення вмісту ЩОК в печінці дослідних риб (табл. 3) і пірувату [2].

Необхідно наголосити, що шляхи енергозабезпечення адаптації коропа до зростання йонів марганцю у водному середовищі (до 100 мкг/дм³) дещо відрізняються від описаних вище. У м'язах знижується рівень ЩОК (відповідно на 16,6%)(табл. 1), малату (відповідно на

31,3%)(табл. 2) порівняно з контролем та зростає вміст пірувату і лактату [2]. Ці результати свідчать про те, що основним шляхом енергозабезпечення процесів адаптації риб до таких умов є гліколіз, оскільки йони марганцю в концентрації 100 мкг/дм³ пригнічують функціонування циклу трикарбонових кислот. Підтвердженням цього є також зростання відновленості НАД-пар в цитоплазмі тканин відносно контролю [2].

Крім того, за дії на риб 100 мкг/дм³ йонів марганцю в печінці, зябрах і м'язах суттєво збільшується вміст α -кетоглутарату (табл. 3), що можна пояснити розпадом білків до амінокислот, енергія яких також може використовуватись для адаптації риб до таких умов водного середовища. Це узгоджується з результатами досліджень В.З.Куранта [4], який показав, що за дії на коропа підвищених концентрацій йонів марганцю в печінці і м'язах зростає вміст вільних амінокислот. Відмічені зміни посилювались зі збільшенням концентрації йонів даного металу у воді, що вказує на високий рівень катаболізму білків. Останнє, за свідченням деяких авторів [9], є результатом активування йонами марганцю тканинних протеїназ.

Зростання вмісту α -кетоглутарату в печінці, зябрах і м'язах коропа за дії високих концентрацій йонів марганцю водного середовища може бути пов'язано з більш значним переамінуванням глутамату зі ЩОК. Сказане підтверджується зменшенням вмісту ЩОК в досліджуваних тканинах риб відносно контролю (табл. 1). Звідси виходить, що за таких умов в тканинах риб повинна змінюватись активність трансаміназ, які, на думку авторів [11], беруть активну участь в процесах адаптації риб до стрес-чинників водного середовища. Дійсно, як показано в роботі [5], за дії на коропа високих концентрацій йонів марганцю водного середовища в тканинах (печінка, м'язи, плазма крові) значно зростає активність аспартатамінотрансферази (АсАТ).

Аналіз отриманих нами результатів показав, що найбільшим вмістом ЩОК, малату і α -кетоглутарату відрізняється печінка контрольних і дослідних риб. Наступні місця займають зябра і м'язи. Такий розподіл величин вказаних показників пояснюється тканинною специфікою процесів, що протікають в організмі риб за дії йонів марганцю. Відомо [7], що марганець відіграє важливу роль у функціонуванні циклу трикарбонових кислот, зокрема в активації ізоцитратдегідрогенази. З її допомогою відбувається дегідрування ізолимонної до щавлево-бурштинової кислоти, яка декарбоксилюється за участю йонів марганцю до α -кетоглутарату. Йони марганцю активують також зворотне карбоксилювання ди- і трикарбонових кислот та процеси відновного карбоксилювання пірувату в малат і ЩОК. Крім того, вказаний метал необхідний для процесів карбоксилювання і декарбоксилювання α -кетоглутарату. Однак, високі (токсичні) концентрації йонів марганцю інгібують дегідрогенази ізолимонної, бурштинової кислоти, пірувату і малату в мітохондріях, що призводить до пригнічення функціонування циклу трикарбонових кислот, а отже, і дихального ланцюгу [3].

На підставі результатів проведених досліджень можна констатувати, що концентрації йонів марганцю водного середовища в межах 5-50 мкг/дм³ не є токсичними для риб, а навпаки, вони посилюють функціонування ефективного аеробного шляху генерування енергії в їх організмі. А це, в свою чергу, позитивно відобразиться на їх біопродуктивності та життєдіяльності. В той же час, більш високі (100 мкг/дм³) концентрації йонів марганцю є токсичними для риб, що проявляється в пригніченні процесів аеробного окиснення та посиленні гліколізу, як менш ефективного шляху енергозабезпечення. Довготривале перебування риб в таких умовах призведе в кінцевому рахунку до зниження як рібопродуктивності, так і до можливої їх загибелі. Виходячи з цього, при вирощуванні коропа необхідно звертати серйозну увагу на концентрацію йонів марганцю у водному середовищі. Тому при встановленні рибогосподарських ГДК необхідно враховувати біоенергетичні зміни в тканинах, як інтегральний показник виявлення межі між фізіологічним і токсичним ефектом марганцю по відношенню до організму риб.

Висновки

Концентрації йонів марганцю в межах 5-50 мкг/дм³ є нетоксичними, а 100 мкг/дм³ – токсичними для коропа.

1. Арсан В.О. Активність цитохромоксидази в тканинах коропа за дії йонів мангану (II) водного середовища // Матеріали Міжнарод. наук.–практ. конф. “Україна наукова 2003”. (16–20 червня 2003 р). – Дніпропетровськ – Харків. – 2003. – Т. 13. Біологія. – С. 34–36.

2. *Арсан В.О.* Вміст пірувату, лактату та співвідношення вільних НАД-пар в тканинах коропа за дії іонів марганцю // Наук. зап. Тернопільського національного педуніверситету ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. – 2010. – № 4 (45). – С. 158–161.
3. *Ершов Ю.А.* Механизмы токсического действия неорганических соединений / Плетенева Т.В. // – М.: Медицина, 1989. – 256 с.
4. *Курант В.З.* Роль вільних амінокислот в адапційно-компенсаторних процесах в організмі риб за дії іонів металів // Наукові записки Тернопільського педуніверситету ім. Володимира Гнатюка. Серія: біологія. – 2001. – 3(14). – С. 205–206.
5. *Курант В.З.* Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів.: Автореф дис... докт біол наук. – К., 2003.– 38 с.
6. *Лакін Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
7. *Никаноров А.М.* Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах/ Никаноров А.М., Жулидов А.В., Покаржевский А.Д./-Л.: Гидрометеоздат, 1985. – 143 с.
8. *Романенко В.Д.* Енергетичний обмін у тканинах коропа при адаптації риб до змін концентрації мангану (II) у водному середовищі / Романенко В.Д., Арсан В.О., Грубінко В.В., Могилевич Н.О.// Наук. зап. Тернопільського педуніверситету ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. – 2003. – № 2 (21).– С. 88–93.
9. *Сологуб Л.І.* Протеїнази клітин та їх функції / Сологуб Л.І., Пашковська І.С., Антоняк Г.Л./– К.: Наук. Думка, 1992. – 196 с.
10. *Хоменчук В.О.* Вплив деяких фізико-хімічних параметрів водного середовища на накопичення важких металів в організмі коропа / Хоменчук В.О., Курант В.З., Коновець І.М., Арсан В.О., Грубінко В.В. // Доповіді НАН України. – 2000. – №5. – С. 173-176.
11. *Хочачка П.* Биохимическая адаптация / Хочачка П., Сомеро Дж.// - М.: Мир, 1988. – 568 с.
12. *Bergmeyer H.U.* α -oxoglutarate / Bergmeyer H.U., Berut E. // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P. 324-327.
13. *Hohorst H.J.* (L-malate)/ Beim M.L. // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P. 328-332
14. *Hohorst H.J.* Oxaloacetic // Methods of enzymatic analysis. – Weinheim: Chemie, 1963. – P. 335-339.

В.Д. Романенко, В.О. Арсан

Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

Украинская лаборатория качества и безопасности продукции АПК Национального университета биоресурсов и природопользования Украины, Киев

ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ АДАПТАЦИИ РЫБ К ИЗМЕНЕНИЯМ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ МАРГАНЦА ВОДНОЙ СРЕДЫ

Приведены результаты исследований влияния разных концентраций ионов марганца (5, 20, 50 и 100 мкг/дм³) водной среды на содержание щавелево-уксусной кислоты (ЩУК), малата, α -кетоглутарата в печени, жабрах и мышцах карпа.

Показана зависимость содержания ЩУК, малата и α -кетоглутарата от концентрации ионов марганца водной среды. Под влиянием концентраций ионов марганца 5-50 мкг/дм³ в тканях рыб уровень ЩУК и малата растет, а при 100 мкг/дм³ – снижается. Уровень α -кетоглутарата при 20 мкг/дм³ не изменяется, при 50 мкг/дм³ – снижается, а при 100 мкг/дм³ – возрастает.

Ключевые слова: карп, ЩУК, малат, α -кетоглутарат, гликолиз, аэробное дыхание

V.D. Romanenko, V.O. Arsan

Institute of Hydrobiology NAS of Ukraine, Kyiv

Ukrainian Laboratory of Products Quality and Safety of AIC, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

ENERGY PROVISION OF ADAPTATION PROCESSES OF FISH TO CHANGES IN THE CONCENTRATIONS OF MANGANESE IONS IN THE WATER ENVIRONMENT

There were given the results of study of the action of different concentrations of manganese ions (5, 20 50 and 100 μ g/L) in aquatic environment on the content of oxaloacetic acid, malate and 2-oxoglutarate in the liver, gills and muscles of carp.

The dependence of oxaloacetic acid, malate and 2-oxoglutarate on the concentration of manganese ions in aquatic environment was shown. The level of oxaloacetic acid and malate in the tissues of fish grows when the concentration of manganese ions is 5-50 μ g/L, and it is reduced when

БІОХІМІЯ

the concentration is 100 $\mu\text{g/L}$. The level of 2-oxoglutarate is not changed when the concentration is 20 $\mu\text{g/L}$, it is reduced when the concentration is 50 $\mu\text{g/L}$ and grows when the concentration is 100 $\mu\text{g/L}$.

Keywords: carp, oxaloacetic acid, malate, 2-oxoglutarate, glycolysis, aerobic processes

Рекомендує до друку

Надійшла 13.10.2010

О.Б. Столяр