

УДК [(546.39+546.17):597.551.2](285.3)

Ю.М. КРАСЮК, О.С. ПОТРОХОВ, О.Г. ЗІНЬКОВСЬКИЙ

Інститут гідробіології НАН України  
пр-т Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210

## **ЗМІНИ СПЕКТРУ БІЛКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ КОРОПОВИХ ВИДІВ РИБ ПІД ВПЛИВОМ СПОЛУК МІНЕРАЛЬНОГО АЗОТУ**

Наведені результати досліджень тривалої дії мінерального азоту на кров дворічок коропа і білого амура. Показано, що під впливом алохтонного азоту підвищувався вміст аміаку та нітритів у плазмі крові. Відмічені зміни фракційного складу білків плазми крові.

*Ключові слова:* короп, білий амур, мінеральний азот, фракції білків

Відомо, що під впливом сполук мінерального азоту суттєво змінюється фізіолого-біохімічний статус риб [2, 5], а аміак, іони амонію та нітрити вільно проникають через епітелій зябер в організм риб [6]. В міру зниження температури води наприкінці вегетаційного періоду спрямування обміну речовин риб суттєво змінюється, а активність ферментативних процесів уповільнюється. Тому в цих умовах токсичність сполук мінерального азоту має особливі риси. Переважна роль в процесі виведення надлишкового аміаку та іонів амонію з організму притаманна плазмі крові. У зв'язку з цим під впливом азотистих сполук суттєво змінюється фракційний склад білків в цій рідині.

Метою роботи було визначити характер пристосувальних реакцій риб до дії високих концентрацій іонів амонію та нітритів на показники плазми крові риб при закінченні вегетаційного періоду з пониженням температури води.

### **Матеріал і методи досліджень**

Експерименти проведено на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Біологічним матеріалом слугували дволітки коропа *Cyprinus carpio* L. масою 200 г та білого амура *Stenopharyngodon idella* Val. масою 150–200 г.

Риб протягом 3 місяців утримували у 2 ставках з різним вмістом сполук мінерального азоту. За весь період спостережень загибелі риб не відмічено. Температура води за період досліджень з серпня до жовтня була в межах 24–12° С. Концентрація сполук алохтонного азоту в воді складала: в дослідному ставку – 16,4–18,6 мг N/дм<sup>3</sup> (16–19 ГДК<sub>рибгосп.</sub>) за іонами амонію, включно аміаку 0,07–0,34 мг N/дм<sup>3</sup> (1–7 ГДК), нітритів – 0,67–0,71 мг N/дм<sup>3</sup> (7 ГДК); в контрольному ставку – не перевищувала 0,1 мг N/дм<sup>3</sup>, < 0,01 мг N/дм<sup>3</sup>, < 0,01 мг N/дм<sup>3</sup> відповідно. Величина рН води контрольного ставка була 8,0–8,2, дослідного – 7,6–7,9.

Вміст аміаку в плазмі крові визначали за Н.П. Львовим [3]. Електрофорез плазми проводили в поліакриламідному гелі згідно В.Н. Тітова та В.А. Амелюшкиної [8]. Як стандарти для визначення рухливості фракцій білку було вибрано сироватковий альбумін (Sigma), дріжджова РНК-аза та капсидні білки вірусів з відомою молекулярною масою.

Отримані результати оброблено статистично за програмою Statistica 5.5.

### **Результати досліджень та їх обговорення**

Як показали наші дослідження, вміст аміаку та нітритів в плазмі крові дволіток коропа та білого амура під впливом високих концентрацій сполук алохтонного азоту (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – 16–19; NH<sub>3</sub> – 1–7; NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – 7 ПДК<sub>рибхоз.</sub>) значно перевищували контрольні показники. Так, вміст аміаку в плазмі коропа після закінчення вегетаційного періоду з пониженням температури зріс в 2,3 рази, а у білого амура – в 2,4 рази порівняно з контролем. Вміст нітритів у плазмі перевищував контрольні значення у коропа в 7,6 разів, а у білого амура – в 7,9 разів.

Білки плазми крові риб виконують низку важливих функцій, а саме, транспортну, дихальну, захисну тощо [7]. Їх вміст може широко змінюватися в залежності від дії різних чинників середовища. Однією з відповідних адаптивних реакцій організму на вплив токсикантів може бути збільшення інтенсивності обміну речовин. Збільшення активності метаболізму призводить до зростання активності транспорту низки речовин, включно тиреоїдних гормонів, холестерину, тригліцеридів та ін. Цей транспорт переважно здійснюється завдяки участі білків альбумінової фракції плазми крові. Крім того, під токсичним навантаженням мобілізується частина білків білих м'язів, які надходять у кров та переносяться нею як енергетичний резерв [1, 4].

Нами відмічено, що у дволіток коропа та білого амура суттєво змінювався спектр білків плазми крові завдяки дії високих концентрацій неорганічного азоту. У них порівняно з контролем помітно зростала фракція високомолекулярних білків ( $\alpha$ -глобулінів) (рис. 1). Оскільки ця фракція містить основні ферменти плазми, то це свідчить про активацію ферментативних процесів, що спрямовані на детоксикацію та екскрецію токсикантів, зокрема аміаку та нітритів.

Змінюється також і кількість фракцій білків у плазмі крові, їх співвідношення та відносний вміст. Найбільш суттєво це помітно в низькомолекулярній частині фракцій глобулінів. Так,  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобуліни плазми контрольних коропів та білих амурів мають одну фракцію, а піддослідних – три фракції.

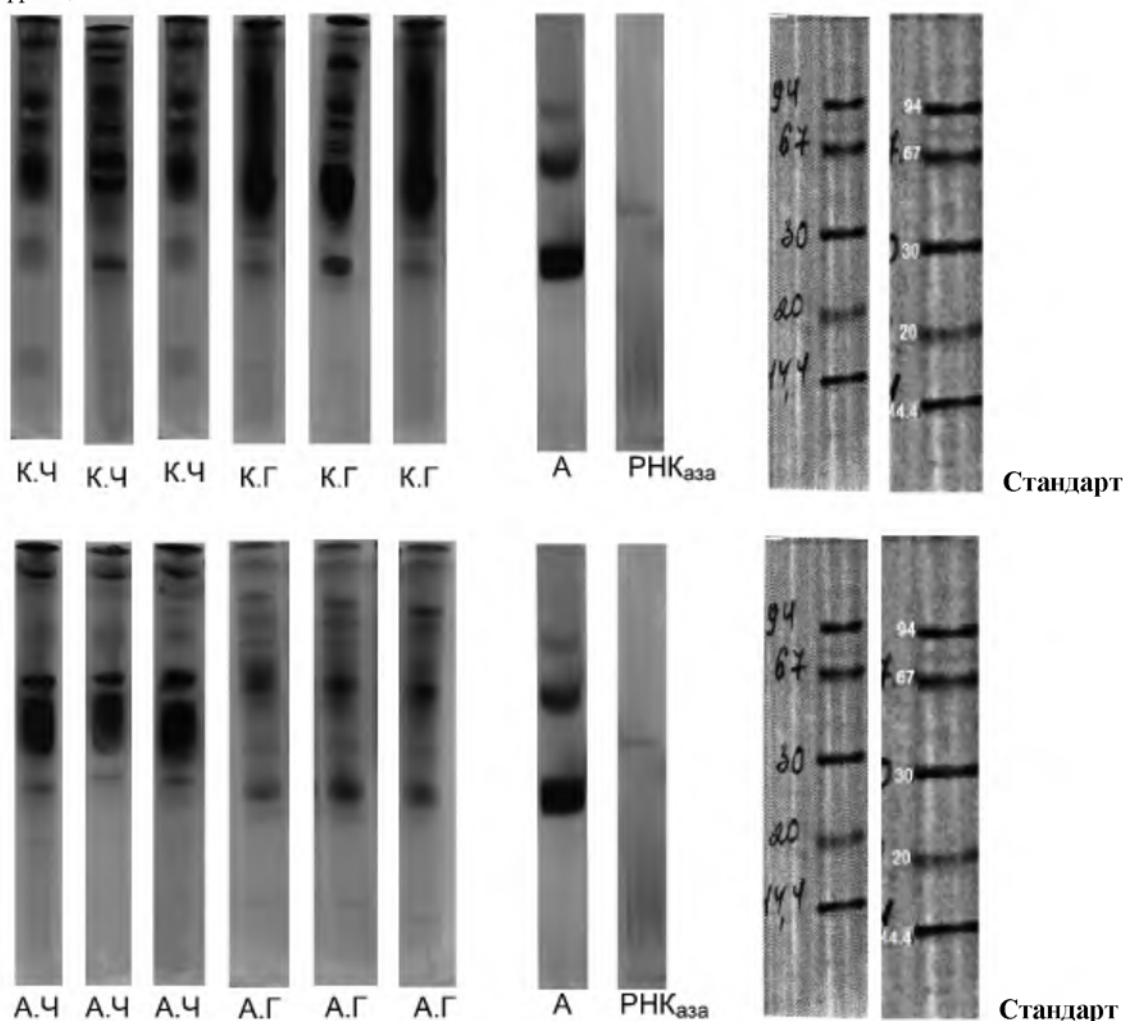


Рис. 1. Електрофореграми фракцій білків плазми крові риб, підданих дії азотистих сполук: А – сироватковий альбумін; РНК<sub>аза</sub> – рибонуклеаза; К.Ч – фракції білку плазми крові коропів з контрольного ставка; К.Г – фракції білку плазми крові коропів з дослідного ставка; А.Ч – фракції білку плазми крові білого амура (контроль); А.Г – фракції білку плазми крові білого амура (дослід)

Однак, основні зміни питомого вмісту білків відбуваються у фракціях альбумінів. Результати досліджень показали суттєву різницю (в 2–3 рази) в кількості альбумінів між контролем та дослідом. Оскільки ця група білків складає більш 60% від загального їх вмісту, то зрозуміло, завдяки змінам яких фракцій підвищується вміст загальних білків в плазмі крові під дією сполук мінерального азоту. Ймовірно, негативний вплив високих концентрацій амонійного та нітритного азоту на риб призвів до зростання активності транспорту та екскреції аміаку та нітритів, оскільки в фракціях альбумінів наявні основні транспортні білки. Крім того, в міру зниження температури води обмін речовин риб в несприятливих умовах переходить до все більшого використання

катаболізму білків, а запасні білки, які утилізуються в цьому процесі, якраз і належать до альбумінової фракції низькомолекулярних білків.

**Висновки**

На підставі отриманих результатів можемо судити про включення компенсаторних механізмів, а саме – про посилення транспортної функції крові риб. Крім того, в міру збільшення токсичності середовища залежно від зниження температури риби як адаптивний механізм більш активно використовують білки, запобігаючи витратам інших енергоємних сполук [9].

Висока лабільність білкового складу плазми крові забезпечує своєчасний та адекватний розвиток адаптивних механізмів у риб, що спрямовані на протидію токсичному впливу сполук мінерального азоту. Результатом цього є підвищена толерантність риб до дії сполук мінерального азоту та відсутність загибелі окремих особин у вегетаційний період та при їх підготовці до зимівлі.

1. Андреева А.М. Структурно-функциональная организация альбуминовой системы крови рыб / А.М. Андреева // Вопр. ихтиологии. – 1999. – Т.39, № 6. – С. 825.
2. Веселов Е.А. Влияние аммонийного азота на некоторые виды пресноводных рыб / Е.А. Веселов, В.Ф. Бурля // Проблемы водной токсикологии. – Петрозаводск, 1978. – С. 52–58.
3. Львов Н.П. Микродиффузионный метод определения аммиака / Н.П. Львов // Методы современной биохимии. – М.: Наука, 1975. – С. 58–61.
4. Мацук В.Е. Динамика белкового и липидного состава крови радужной форели *Salmo gairdneri rich.* / Мацук В.Е., Новиков Г.Г. // Вопросы ихтиологии. – 1979. – Т. 18, вып. 2(109). – С. 329–341.
5. Потрохов А.С. Изменение ряда морфологических показателей карпов под воздействием повышенной концентрации минерального азота в воде / А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский, Т.Я. Киризий, Ю.Н. Худияш // Гидробиол. журн. – 2006. – Т. 42, № 6. – С. 81–90.
6. Романенко В.Д. Метаболические особенности адаптации карпа к изменению концентрации минерального азота в водной среде / В.Д. Романенко, А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский // Объед. III Всеросс. конф. по вод. токсикологии, посвященная памяти Б.А.Флерова «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы», 11–16 ноября 2008 г., Борок. – Борок, 2008. – С. 132–136.
7. Смит Л.С. Введение в физиологию рыб / Л.С. Смит. – М.: Агропромиздат. – 1986. – 168 с.
8. Титов В.Н. Электрофорез белков сыворотки крови / Титов В.Н., Амелюшкина В.А. – М., 1994. – 214 с.
9. Хочачка П. Стратегия биохимической адаптации / Хочачка П., Сомеро Дж.. – М.: Мир, 1977. – 398 с.

*Ю.М. Красюк, О.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский*

Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

**ИЗМЕНЕНИЯ СПЕКТРА БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАРПОВЫХ ВИДОВ РЫБ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СОЕДИНЕНИЙ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА**

Представлены результаты исследований по продолжительному влиянию минерального азота на кровь двухлеток карпа и белого амура. Показано, что под действием аллохтонного азота повышалось содержание аммиака, нитритов в плазме крови. Отмечены изменения фракционного состава белков в плазме крови.

*Ключевые слова: карп, белый амур, минеральный азот, фракции белков, сыворотка крови*

*Yu.M. Krasnyuk, O.S. Potrochov, O.G. Zin'kovskiy*

Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

**CHANGES SPECTRUM PROTEINS PLASMA OF BLOOD CARP TYPES OF PISCES UNDER ACT CONNECTIONS OF MINERAL NITROGEN**

The results of researches are presented on long influence of mineral nitrogen on blood of carp and grass carp (age two years). It is pointed that under the effect of mineral nitrogen content ammonia and nitrites was increased in plasma of blood. The changes of factious composition of albumens are marked in plasma of blood.

*Key words: carp, white cupid, mineral nitrogen, factions of albumens, whey of blood*