

УДК 577.12:594.1(577.112:577.151.6:546.18)

О.М. АРСАН, М.О. САВЛУЧИНСЬКА, С.П. БУРМІСТРЕНКО, Ю.М. СИТНИК,
М.Г. МАРДАРЕВИЧІнститут гідробіології НАН України
пр. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна

ДИНАМІКА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ В ТКАНИНАХ МОЛЮСКІВ *UNIO TUMIDUS* PH. ЗА ДІЇ НЕОРГАНІЧНОГО ФОСФОРУ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

Досліджено вплив різних концентрацій (0,3; 0,5 і 1,0 мг/дм³) неорганічного фосфору водного середовища на його накопичення, вміст загального білку, активність АТФ-ази, аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАт) в тканинах молюсків. Встановлено залежність величини цих показників від концентрації та виду тканин молюсків.

Ключові слова: неорганічний фосфор, молюски, гепатопанкреас, зябра, рідина мантійної порожнини, адаптація

Антропогенний вплив на водні об'єкти призвів до їх забруднення фосфорними сполуками. Вони, надходячи у воду та накопичуючись у донних відкладах і особливо у гідробіонтах, негативно впливають на метаболічні процеси в їх організмі, що призводить до зниження біопродуктивності. Важливу роль у забрудненні водних об'єктів, крім промислових, комунальних стічних вод та застосування мінеральних добрив, фосфоровмісними сполуками, відіграють миючі засоби, до складу яких входить від 30 до 45% триполіфосфату натрію. Вони погано піддаються очищенню на станціях очистки стічних вод [1, 3]. Виходячи з того, що інформацію щодо впливу фосфоровмісних речовин на молюсків у фаховій літературі висвітлено недостатньо, ми досліджували динаміку фізіолого-біохімічних показників в тканинах за дії різних концентрацій неорганічного фосфору водного середовища.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом досліджень слугували молюски *Unio tumidus* Ph. масою 40,1–47,9 г, зібрані у липні 2014 р у гирлі р. Десна (с. Новосілки) біля Києва. Молюсків по 10 екземплярів поміщали в ексікатори з прожареним піском (2 кг), які переносили у 100 дм³ акваріуми з відстояною водопровідною водою та обладнаними газо- і терморегуляторами.

Неорганічний фосфор (Фн) вносили у воду акваріумів одноразово розчиненням безводної солі Na₂HPO₄, створюючи його концентрації 0,3; 0,5 і 1,0 мг/дм³. Контролем слугував акваріум, у воду якого не вносили Na₂HPO₄. Молюсків кормили раз у два дні розтертим у порошок гранульований рибний комбікорм. Експозиція дослідів становила 14 діб. Такий період є достатнім для формування процесів адаптації водних тварин до дії чинників довкілля [4, 7]. Після цього з кожного акваріуму забирали по 5 молюсків, а решту – через 21 добу експерименту для визначення в їх тканинах величин фізіолого-біохімічних показників.

За період експерименту воду в акваріумах не міняли. Вміст кисню у ній коливався в межах 9,41–11,97 мг/дм³, рН – 8,3–8,5. Температура води протягом дослідів підтримувалась автоматично на рівні 24–26 °С.

Для досліджень використовували зябра, гепатопанкреас та рідину мантійної порожнини молюсків. Активність аланінамінотрансферази (АлАТ) (КФ 2.6.1.2) і аспартатамінотрансферази (АсАТ) (КФ 2.6.1.1) визначали за [6] і виражали в мкмоль пірувату/мг білку за хвилину. Про загальну АТФ-азну активність (мкмоль Р/мг білку за год.) судили за [8]. Загальний вміст білку (мг/г) визначали за [9], а неорганічного фосфору в тканинах (мкг PO₄³⁻/мг) і рідині мантійної порожнини (мкг PO₄³⁻/мл) – за [5]. Досліди проводили у п'ятикратній повторності.

Отримані результати досліджень оброблено статистично [2].

Результати досліджень та їх обговорення

В результаті досліджень встановлено, що концентрація неорганічного фосфору в рідині мантийної порожнини молюсків залежить від його наявності у водному середовищі. Так, на 14 добу досліду вміст неорганічного фосфору в цій рідині молюсків зростав від $6,07 \pm 0,30$ мкг/мл (контроль) до $7,50 \pm 0,50$ і $8,34 \pm 0,82$ мкг/мл або на 25–37 % зі збільшенням його концентрації у воді до 0,5 і особливо до 1,0 мг/дм³. Слід зазначити, що з подовженням терміну досліду до 21 доби вміст неорганічного фосфору в рідині мантийної порожнини мав тенденцію до зниження за всіх досліджуваних концентраціях його у водному середовищі.

На відміну від рідини мантийної порожнини в зябрах та гепатопанкреасі молюсків не відмічено вірогідних змін вмісту неорганічного фосфору за їх 14 добової адаптації до різних (0,3–1,0 мг Р/дм³) концентрацій фосфору у воді. Однак, зі збільшенням часу перебування молюсків у воді до 21 доби вірогідне зростання Фн на 25% відмічено лише в зябрах за концентрації його у воді 1,0 мг/дм³ і вірогідне зниження на 28% – у гепатопанкреасі при концентрації 0,3 мг/дм³. Відмічений факт можна пояснити перерозподілом неорганічного фосфору у тканинах молюсків за таких умов водного середовища, тобто наявністю в їх організмі механізмів, що дозволяють досить ефективно регулювати рівні цього елементу.

Накопичення неорганічного фосфору в досліджуваних тканинах молюсків при їх адаптації до різних його концентрацій у водному середовищі спричинило неоднозначний вплив на вміст загального білку в цих тканинах. Так, в гепатопанкреасі молюсків зі збільшенням концентрації неорганічного фосфору у воді від 0,3 до 1,0 мг /дм³ та тривалості досліду (14 і 21 добу) вміст загального білку вірогідно не змінювався порівняно з контролем і був на рівні 42–50 мг/г. Лише за максимальної концентрації неорганічного фосфору у воді (1,0 мг/дм³) вміст загального білку на 21 добу зростав на 15 % відносно контролю.

Натомість в зябрах молюсків при 14 добовій експозиції до підвищених концентрацій (0,3–1,0 мг/дм³) неорганічного фосфору у воді спостерігалась тенденція до зростання (в межах 26–35 мг/г) вмісту загального білку. При перебуванні молюсків 21 добу в таких умовах вміст загального білку в цій тканині вірогідно зростав на 25, 29 і 15% порівняно з контролем.

На відміну від зябер та гепатопанкреасу, в рідині мантийної порожнини молюсків при їх 14 добовій адаптації до підвищених концентрацій неорганічного фосфору у воді в діапазоні від 0,3 до 1,0 мг/дм³ вміст загального білку поступово зростав від 1,57 мг/мл (в контролі) до 1,8; 1,96 і 2,17 мг/мл. А на 21 добу перебування молюсків в таких умовах водного середовища вміст загального білку у цій рідині зменшувався відповідно на 10,5; 20 і 52 % порівняно з контролем. Ці зміни вмісту загального білку в рідині мантийної порожнини, зябрах та гепатопанкреасі молюсків за таких умов можуть бути пов'язані з його перерозподілом між даними тканинами або з посиленням його синтезу в гепатопанкреасі (за дії 1,0 мг/дм³ неорганічного фосфору) і особливо у зябрах.

Щодо АТФ-ази, то її активність в зябрах молюсків при 14 добовій адаптації до 0,3, 0,5 і 1,0 мг/дм³ неорганічного фосфору у воді поступово знижувалась з 7,10 до 5,30 мкг Р/мг білку × год., а при 21 добовій експозиції – була ще меншою (1,62 мкг Р/мг білку × год.).

На відміну від зябер, в гепатопанкреасі молюсків на 14 добу спостерігалась тенденція до зростання АТФ-азної активності (на 7–13%) відносно контролю (3,59±0,68 мкг Р/мг білку за год.) зі зростанням концентрації неорганічного фосфору до 0,3 і 0,5 мг/дм³. Однак за дії на молюсків 1,0 мг/дм³ неорганічного фосфору АТФ-азна активність в гепатопанкреасі різко збільшувалась (на 44,85%) порівняно з контролем. При 21 добовій адаптації молюсків до підвищених концентрацій неорганічного фосфору у воді (0,3; 0,5 і 1,0 мг/дм³) активність АТФ-ази в цій тканині вірогідно зростала (відповідно у 2,0, 1,3 та 2,3 рази) відносно контролю. Відмічений факт свідчить про зростання енергозабезпечення організму молюсків при адаптації до таких умов водного середовища.

Крім АТФ-ази, визначали активність трансаміназ (АлАТ та АсАТ) у зябрах та гепатопанкреасі молюсків при їх 14 і 21 добовій адаптації до різних концентрацій (0,3, 0,5 та 1,0 мг/дм³) неорганічного фосфору у воді. Ці ферменти відіграють важливу роль як в процесах гліюконеогенезу, так і в енергетичному обміні. Їх активність є надійним показником інтенсивності метаболізму, а, отже, міри розвитку захисно-приспосувального процесу.

Траснамінази каналізують процес зворотного міжмолекулярного переносу аміногруп між α -кетокислотами та амінокислотами.

Як показали результати наших досліджень, активність АсАТ тканин моллюсків характеризується досить широкою амплітудою коливань залежно від концентрації неорганічного фосфору у воді, періоду експозиції та виду тканин. Причому активність АлАТ була вищою, ніж АсАТ.

Висновки

В результаті досліджень встановлено, що активність АлАТ в зябрах та гепатопанкреасі моллюсків мало реагує на наявність підвищених концентрацій неорганічного фосфору у воді, хоча спостерігається лише певна тенденція до змін її активності в цих тканинах зі зростанням концентрації неорганічного фосфору у воді та тривалості досліді.

В зябрах моллюсків при 14 добовому періоді адаптації до підвищених (0,3, 0,5 і 1,0 мг/дм³) концентрацій неорганічного фосфору у воді спостерігалась лише тенденція до зниження активності АсАТ, тоді як при 21 добовій адаптації їх до таких умов – вірогідне зниження активності цього ферменту порівняно з контролем.

В гепатопанкреасі моллюсків при адаптації 14 діб до наявності неорганічного фосфору у воді 0,5 мг/дм³ активність АсАТ вірогідно зростала на 80%, тоді як на 21 добу – вірогідно зростала при 0,3 і 1,0 мг/дм³ відповідно на 66,6 та 86,8 % щодо контролю.

1. Горбатюк Л. О. Особливості акумуляції фосфору гідрофітами водойми в районі Бортницької станції аерації (м. Київ) / Л. О. Горбатюк, О. О. Пасічна, О. М. Арсан. [та ін.] // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2014. – № 1 (58). – С. 20–25.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
3. Лузовіцька Ю. А. Винос біогенних елементів із водозбору річки Десна / Ю. А. Лузовіцька, Н. М. Осадча, В. І. Осадчий // Наук. праці Укр НДГМ. – 2011. – С. 117
4. Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та 1982. – 272 с.
5. Определение неорганического фосфата // Практикум по биохимии: учебное пособие / Под ред. С. Е. Северина и Г. А. Соловьевой. – 2-е изд. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 33–36.
6. Пасхина Т. С. Инструкция по определению глутамино-аспарагиновой и глутамино-аланиновой трансминаз (аминотрансфераз) в сыворотке крови человека / Т. С. Пасхина – М.: Здоровье, 1974. – 22 с.
7. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович. – Л.: Наука, 1981. – 135 с.
8. Dang Z. Na⁺/K⁺-ATPase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper / Z. Dang, R Lock, G. Flik // J. Exp. Biol. – 2000. – Vol. 203. – P. 379–387.
9. Loury O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Loury, N. J. Rosbrough, A. L. Farr, Randall R. J. // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 191. – P. 265–275.

О.М. Арсан, М.А. Савлущинская, С.П. Бурмистренко, Ю.М. Ситник, М.Г. Мардаревич
Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

ДИНАМИКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ТКАНЯХ МОЛЛЮСКОВ (*UNIO TUMIDUS* PH.) ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА ВОДНОЙ СРЕДЫ

Исследовано влияние различных концентраций (0,3; 0,5 і 1,0 мг/дм³) неорганического фосфора водной среды на его накопление, содержание общего белка, активность АТФ-азы, аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАт) в тканях моллюсков. Установлена зависимость величины этих показателей от концентрации, периода экспозиции и вида тканей моллюсков.

Ключевые слова: неорганический фосфор, моллюски, гепатопанкреас, жабры, жидкость мантийной полости, адаптация

O.M. Arsan, M.O. Savluchynska, S.P. Burmistrov, Yu.M. Sytnik, M.G. Mardarevich
Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

DYNAMICS OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICES IN THE TISSUES OF MOLLUSKS (UNIO TUMIDUS PH.) UNDER THE INFLUENCE OF INORGANIC PHOSPHORUS IN THE AQUATIC ENVIRONMENT

The influences of various concentrations of inorganic phosphorus (0.3, 0.5 and 1.0 mg/L) registered in the aquatic environment on its accumulation in the tissues of mollusks, on the total content of protein, and also on the activity of adenosine triphosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, was investigated. Relationship was established between these indices and the concentration of inorganic phosphorus, duration of exposure, and the type of mollusks tissues.

Keywords: inorganic phosphorus, mollusks, hepatopancreas, gills, adaptation

УДК [581.52]

Л.Є. АСТАХОВА, Г.В. МУЖ

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, 10008, Україна

ВИВЧЕННЯ В ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ, СМЗ ТА ГЕРБІЦИДІВ НА МОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ *ELODEA CANADENSIS*

У статті наведені результати лабораторних досліджень впливу розчинів солей важких металів, синтетичних миючих засобів та гербіцидів на морфологічні показники *Elodea canadensis*. Найбільш токсичну дію на рослини спричиняють СМЗ, які пригнічують ріст та розвиток елодеї значно раніше і в менших концентраціях, ніж інші досліджувані токсиканти. Виявлені тест-реакції рослин можуть бути використані у системі біомоніторингу водного середовища.

Ключові слова: біотестування, тест-реакція, морфологічні показники, токсиканти, *Elodea canadensis*

Проблема забруднення водного середовища токсичними речовинами загострюється з кожним роком і набуває глобальних масштабів. Для оцінки стану водних екосистем широкого використання набув біоіндикаційний метод, який дозволяє оцінити ступінь забруднення навколишнього середовища за станом біоти, серед якої важлива роль належить макрофітам [1]. Зручним тест-об'єктом в біологічному моніторингу прісноводних екосистем є елодея канадська (*Elodea canadensis*), які відзначається високою чутливістю до зміни умов середовища. Мета нашого дослідження полягала у вивченні змін морфологічних показників *E. canadensis* шляхом хронічного біотестування.

Матеріал і методи досліджень

Для постановки токсикологічного експерименту використані: розчини синтетичних миючих засобів (СМЗ) – засобу для посуду «Gala» та прального порошку «Persil expert» з концентраціями 0,1; 0,2 та 0,5 мг/дм³; розчини гербіцидів «Астера» – 1,0; 2,0 і 5,0 мл/дм³ та «Дикамба Форте» – 1,6; 3,2 та 8,0 мл/дм³ та солі важких металів – ZnSO₄ · 7H₂O – 1,0; 2,0 і 5,0 мг/дм³ та Pb(NO₃)₂ – 0,1; 0,2 і 0,5 мг/дм³. Розчини усіх взятих токсикантів відповідали 1, 2 і 5 ГДК.

При проведенні експерименту по п'ять пагонів *E. canadensis* довжиною 10 см без ушкодження верхівки, без бічних відгалужень та коренів поміщали у скляні ємності об'ємом 1 дм³, заповнені досліджуваними розчинами токсикантів відповідних концентрацій. Контролем слугували рослини, що знаходились у дехлорованій воді. Тривалість проведення експерименту становила 14 діб. Заміну розчинів здійснювали через кожні 48 год. У лабораторії підтримували постійний світловий та температурний режим. В якості тест-реакцій елодеї використані такі