

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ  
ИНСТИТУТ ГИДРОБИОЛОГИИ

На правах рукописи

ДОМАШЛИНЦЕВ ВЛАДИМИР ГРИГОРЬЕВИЧ

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВОДНОЙ СРЕДЫ НА  
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС КАРПА В ПРОЦЕССЕ  
ЗИМОВКИ

03.00.18 - ГИДРОБИОЛОГИЯ

03.00.10 - ИХТИОЛОГИЯ

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

КИЕВ - 1993

26.007  
Работа выполнена в Институте гидробиологии АН Украины

Научный руководитель: член-корреспондент АН Украины,  
доктор биологических наук  
ЕВТУШЕНКО Н. Ю.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук  
АРСАН О. М.,  
кандидат биологических наук,  
доцент ГРУБИНКО В. В.

Ведущая организация: Институт зоологии АН Украины  
им. И. И. Шмальгаузена

Защита состоится "30" марта 1993 г. в 10<sup>00</sup> на  
заседании специализированного Ученого совета Д 016.19.01  
в Институте гидробиологии АН Украины (254655, МСП,  
Киев-210, просп. Героев Сталинграда, 12)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке  
Института гидробиологии АН Украины

Автореферат разослан "24" февраля 1993 г.

Ученый секретарь  
специализированного совета  
доктор биологических наук

  
А. А. Протасов

ЛНБ України ім.В.Стефаника



00815300 (H)

ЛНБ ім. В. Стефаника  
АН України

ТВ - 26,807

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Решение вопросов повышения рыбопродуктивности внутренних водоемов предусматривает в первую очередь обеспечение их в достаточном количестве рыбопосадочным материалом. Однако, как показала практика рыборазведения, дефицит его в рыбных хозяйствах в значительной степени обусловлен высоким процентом гибели, особенно в период зимовки. Наиболее уязвимой на этом этапе жизненного цикла является молодь рыб, значительный отход которой (до 50% и более) наблюдается во многих рыбных хозяйствах (Кривошеков, 1972; Белобородова, Бурлакова, 1981; Гарин, 1981; Бурлаченко, Логвиненко, 1990; Галина, Седых, Костылев, 1990; Steinmetz, Feith, 1980 и др.). Между тем, несмотря на широкий круг исследований в области изучения проблем зимовки рыб и установления причин их гибели в зимний период, многие вопросы остаются слабо изученными. Недостаточно освещенными являются проблемы влияния измененного температурного режима воды на процессы зимовки рыб, поскольку температура является важным фактором, изменяющим интенсивность и направленность метаболических процессов. Особую актуальность этот вопрос приобретает при длительном голодании рыб и обеспеченности энергетических и обменных процессов исключительно за счет эндогенного питания. Проблема создания оптимальных условий зимовки и снижения гибели рыб на этом этапе в настоящее время значительно осложняется растущим антропогенным прессом на водные экосистемы, следствием чего является все возрастающее загрязнение водных биотопов широкой гаммой аллохтонных токсических веществ, включая тяжелые металлы. Неоднозначное влияние поллютантов на гидробионтов вызывает необходимость изучения последствий загрязнения окружающей среды с точки зрения их воздействия на физиолого-биохимический статус водных животных, особенно в неблагоприятные периоды жизни, каким и является зимовка. Знание закономерностей биологического отклика рыб как на естественные факторы зимовки, так и на дополнительные, которые возникают вследствие хозяйственной деятельности человека (загрязнение тяжелыми металлами, изменение термического режима водоемов и др.), позволит расширить теоретические представления о направленности метаболических процессов в условиях зимовки, а также научно обосновать пути увеличения рыбопро-

дуктивности водоемов и найти способы повышения резистентности рыб к токсической нагрузке в условиях, когда последняя бывает трудно устранимой.

Цель и задачи исследований. Исходя из вышеизложенного, целью наших исследований было изучить характер метаболических процессов рыб под воздействием изменяющихся условий зимовки при длительном голодании.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить динамику и особенности протекания метаболических процессов в организме сеголеток карпа при его зимовке в прудах в естественных условиях и на теплых водах энергетических объектов;
- в модельных аквариальных условиях исследовать влияние температуры водной среды на характер обменных процессов у рыб при их длительном голодании в период зимовки;
- изучить действие потенциальных токсикантов (соли тяжелых металлов) и протекторов (гумат натрия, перекись водорода, антистрессорные вещества) на процессы зимовки в разнотемпературных условиях.

Теоретическое значение и научная новизна работы.

1. Установлена динамика, особенности и взаимосвязь между белковым, липидным, углеводным и минеральным обменом у рыб, зимующих в разнотемпературных условиях (в прудах обычного рыбного хозяйства, в прудах на подогретых сбросных водах ГРЭС, в аквариумах с различным температурным режимом).

2. Выявлена роль температурного фактора водной среды в протекании метаболических процессов у рыб в условиях продолжительного голодания в зимний период. Показано, что с повышением температуры воды происходит более быстрая мобилизация резерва питательных веществ эндогенного происхождения для обеспечения энергообмена голодающей молоди в период зимовки и наблюдается адекватная адаптивная перестройка обмена веществ и функциональной активности органов и тканей.

3. Прослежен характер изменений пула свободных аминокислот, а также распределения макро- и микроэлементов в органах и тканях рыб на различных этапах зимовки в условиях длительного голодания и измененного температурного режима водной среды.

4. Впервые изучены общие особенности метаболизма и харак-

тер изменения некоторых морфофизиологических и биохимических показателей молоди карпа при действии на организм как приоритетных токсикантов (тяжелые металлы), так и потенциальных протекторов (гумат натрия, перекись водорода, антистрессорные соединения) в условиях длительного голодания на фоне низкой температуры водной среды. Заложена теоретическая основа применения перекиси водорода и феназелама для обеспечения более экономного режима энерготрат организма рыб в процессе зимовки.

5. Полученные данные расширяют теоретические представления о закономерностях и механизмах метаболических процессов у рыб в период их зимовки, а также могут быть использованы при объяснении причин гибели рыбопосадочного материала во время зимовки или после нее.

Практическая ценность работы. Результаты данной работы могут быть использованы в практическом рыбоводстве для оценки функционального состояния рыб в процессе зимовки, а также будут полезны для расширения спектра физиолого-биохимических критериев, характеризующих статус зимующих рыб. Полученные материалы о положительном влиянии перекиси водорода и феназелама на состояние энергоресурсов молоди рыб в период зимовки открывают определенные перспективы для их практического применения с целью повышения выхода рыбопосадочного материала после зимовки и улучшения физиологического состояния рыб.

Апробация работы. Основные положения работы были представлены на: Всесоюзной конференции молодых ученых "Актуальные проблемы водной экологии" (Киев, 1989 г.); Втором симпозиуме по экологической биохимии рыб (Ростов Великий, 1990 г.); Республиканской научно-практической конференции "Экологические проблемы теплоэнергетики" (г. Одесса, 1990 г.); Второй Всесоюзной конференции по рыбохозяйственной токсикологии (Санкт-Петербург, 1991 г.); VIII научной конференции по экологической физиологии и биохимии рыб (Петрозаводск, 1992 г.).

#### Научные публикации.

По материалам диссертации подготовлено 9 публикаций, из которых 8 опубликовано, а 1 находится в печати.

#### Объем и структура работы.

Диссертация написана на **281** страницах машинописи и включает 76 рисунков, 22 таблиц. Она состоит из введения, аналити-

ческого обзора литературы, методической главы, трех экспериментальных глав, заключения и выводов. Список литературы включает 479 источников, из которых 116 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### I. Литературный обзор.

В главе представлена сводка литературных данных, характеризующих современное состояние исследований по проблемам зимовки рыб. Дается анализ причин гибели молоди рыб в зимний период, описывается влияние условий выращивания на физиолого-биохимический статус зимующих рыб. Дана характеристика белкового, углеводного, липидного и минерального обмена у рыб в процессе зимовки в разных экологических условиях.

### II. Материалы и методы исследований

Объектом исследований служили сеголетки карпа *Cyprinus carpio* L. Исследования проводили в на протяжении трех зим 1988-1991 гг.

На первом этапе зимой 1988/89 гг. изучали процессы зимовки у сеголеток карпа в естественных условиях (зимовальный пруд) и в аквариумах при моделировании разных температурных режимов.

Для достижения поставленных целей сеголеток карпа массой 15-25 г содержали на протяжении 150 сут в аквариумах емкостью 100 л при температурах 2, 5 и 10° С с постоянным кислородным (9-10 мг/л) и световым режимом (8 ч освещения). Параллельно в зимовальном пруду Белоцерковской базы был оборудован сетчатый садок (1 x 1 x 1 м), куда поместили около 200 таких же сеголеток карпа, как и в аквариумах. В зимовальном пруду постоянно контролировали содержание кислорода и температуру. Ежемесячно с декабря по апрель из садка и аквариумов отбирали по 15-20 особей. У них регистрировали как морфофизиологические (длина, масса, коэффициент упитанности по Фультону, индексы печени, почек и селезенки, гемоглобин и гематокрит крови), так и биохимические показатели (количество гликогена, суммарных белков и липидов в печени и мышечной ткани, динамику содержания свободных аминокислот в

мышцах, печени и плазме крови, концентрацию магния, марганца, цинка, меди, железа, кобальта, натрия и калия в коже, чешуе, белых мышцах, железистом аппарате жабр, позвоночнике (костной ткани), селезенке, почках, печени и крови.

Зимой 1989/90 гг. изучали ход зимовки рыб в условиях тепловодного рыбного хозяйства на водоеме-охладителе Ладжинской ГРЭС. У сеголеток карпа регистрировали те же параметры, что и в предыдущем опыте, за исключением аминокислотного состава органов и тканей. В этот же период, а также зимой 1990/91 гг. в аквариальных условиях исследовали влияние как потенциальных токсикантов (соль меди в концентрации 0,1 мг/л при 4°C), так и протекторов (перекись водорода, гуamat натрия в концентрациях 0,1 и 0,01 г/л при 4°C, препарат феназепам (производное 1,4-бенздиазепина) в концентрациях 1 и 2 мг/л при 4 и 10°C), а также смеси гуамата натрия (0,1 и 0,01 г/л) и соли меди (0,1 мг/л) на процессы зимовки сеголеток карпа в условиях длительного голодания при низкой температуре воды. Продолжительность опытов составила 2 и 3 мес. Рыб в количестве 25-30 шт. сажали в 100-л аквариумы. Ежемесячно отбирали по 8-10 особей, у которых фиксировали длину, массу, коэффициент упитанности по Фультону, висцеральные индексы, содержание белка, липидов и гликогена в мышцах и печени, уровень перекисного окисления липидов в жабрах и мышцах.

В ходе описанных экспериментов гликоген определяли антроновым методом по Seifter et al. (1950). Общий белок оценивали по методу Лоури (Lowry, 1951). Суммарные липиды определяли при помощи набора реактивов фирмы "Сhemapol" (Прага). Об уровне ПОД судили по концентрации малонового диальдегида (Стальная, Гаршвили, 1977). Гемоглобин определяли гемометром Сали, гематокрит по общепринятой методике (Кудрявцев, Кудрявцева, Привольнев, 1969).

Для проведения аминокислотного анализа ежемесячно у 5-10 особей брали мышечную ткань (белые мышцы в средней части спины), печень и кровь. Плазму крови готовили по общепринятой методике (Новые методы... 1974). Мышечную ткань и печень фиксировали 97% этиловым спиртом, затем свободные аминокислоты экстрагировали в 3х-ном растворе сульфасалициловой кислоты путем гомогенизации образца ткани в указанном растворе с последующим трехкратным центрифугированием при 13500 г в течение 15 мин (Рядчиков,

1978). Экстракты свободных аминокислот использовали для хроматографии на автоматическом аминокислотном анализаторе AAA-339 (Microtechnica, Прага).

Перед определением содержания металлов в тканях рыб образцы тканей сжигали методом мокрого озоления в концентрированной азотной кислоте (ОС4) по Кьельдалю (Никаноров, Жулидов, Покаржевский, 1985). Количественное определение элементов осуществляли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра ААС-1 фирмы "Karl Zeiss" (Иена, ГДР).

Результаты всех экспериментов обработаны методами вариационной статистики (Рокицкий, 1967; Лакин, 1990). Достоверность отличий средних оценивали при помощи  $t$ -критерия Стьюдента на уровне значимости  $p < 0,05$ .

### III. Динамика метаболических процессов у рыб при выращивании в водоемах с различным температурным режимом

Для познания закономерностей обмена веществ у рыб в процессе зимовки важное значение имеет изучение характера утилизации основных запасных питательных веществ в ходе длительного голодания в разных экологических условиях.

В результате исследования у сеголеток карпа в зимовальном пруду Белоцерковской базы течения зимовки, которая проходила в относительно хороших условиях, установлено, что степень использования энергетических субстратов неодинакова в разные ее периоды. В первую половину зимовки (в феврале) обнаружено снижение содержания суммарного белка мышц и печени и гликогена мышц. В дальнейшем количество белка в мышцах и печени увеличилось. В конце зимовки существенно снизилось содержание гликогена и липидов печени, что свидетельствует об увеличении роли у рыб этих субстратов в данный период. Это может быть связано с повышением температуры водной среды, усилением локомоторной активности рыб и переходом их на внешнее питание.

Показатели крови, оставаясь приблизительно на одном уровне в течение всей зимовки, заметно снижались в конце ее. Это может объясняться физиологическим старением и гибелью эритроцитов, поскольку эти процессы не компенсировались активностью кроветворных органов.

В условиях зимовки у голодающих рыб усиливается роль свободных аминокислот в физиолого-биохимических процессах, особенно в энергообмене (Грубинко, 1988; Жиденко, 1990; Creach, 1976).

В результате аминокислотного анализа в мышцах рыб обнаружено 18 аминокислот, в печени - 17, а также ряд промежуточных метаболитов, в плазме крови - 17.

В мышечной ткани карпа в ходе зимовки наблюдалась общая тенденция к снижению количества аминокислот. При этом степень уменьшения заменимых свободных аминокислот была выражена сильнее. Об этом говорит и значительное возрастание к весенним месяцам соотношения суммы незаменимых к сумме заменимых аминокислот. Таким образом, обмен заменимых аминокислот в ходе зимовки в мышцах карпа был выше, чем незаменимых. Среди заменимых аминокислот ведущее место по относительному количеству принадлежало глицину и аланину. Эти аминокислоты, согласно литературным данным (Явоненко и др., 1988, 1989), играют существенную роль в обеспечении энергообмена зимующей молодежи. Предпочтительное использование глицина и аланина в метаболизме по сравнению с другими может, также объясняться тем, что они не влияют на функции макромолекул (Хочачка, Сомеро, 1988) и легко дезаминируются. Данное свойство предохраняет организм от непроизводительных энергозатрат. Обращают также внимание на осмотическую роль данных аминокислот (Хочачка, Сомеро, 1988). В условиях дефицита минеральных осмотитов во время голодания рыб такое свойство можно рассматривать как своеобразную адаптацию организма, направленную на поддержание внутреннего гомеостаза. В этой адаптивной реакции, возможно, принимает участие и таурин, значительное количество которого обнаружено нами в тканях исследуемых рыб. На осмотическое значение таурина указывается и в литературе (Van, 1988; Goldstein, Luer, Blum, 1990).

Известно, что в регуляции многих физиолого-биохимических процессов у рыб ведущая роль принадлежит микро- и макроэлементам. Особую актуальность этот вопрос приобретает при изучении зимовки. Наши исследования показали, что количественные закономерности распределения и динамики биометаллов в органах и тканях зимующих рыб определяются функциональной ролью элемента в данной ткани, тканевой специфичностью и периодом зимовки. Об этом свидетельствует значительная неравномерность распределения биозле-

ментов в органах и тканях рыб и заметные изменения их количества в ходе зимовки. Так, обнаружено, что содержание цинка, меди, кобальта, железа и, в меньшей степени, калия заметно больше во внутренних органах (почки, печень, селезенка), а также в железистом аппарате жабр. Значительные фазовые изменения содержания этих металлов в ходе зимовки указывают на активное участие их в обмене веществ зимующей рыбы. Обращает также внимание тенденция к росту содержания от зимних к весенним месяцам марганца, меди, кобальта и железа во внутренних органах и железистом аппарате жабр, что свидетельствует об активизации обменных процессов в этих органах в весенний период. Источником для поступления биометаллов в органы, где они в данный момент функционально более необходимы, могли служить депонирующие органы - мышечная и костная ткани и внешняя среда.

В связи с ведущей ролью температурного фактора в метаболизме зимующих рыб определенный интерес представляют данные об особенностях зимовки в условиях тепловодного рыбного хозяйства.

По нашим данным, в этих условиях у сеголеток карпа не наблюдалось значительной утилизации энергетических субстратов, что объясняется зимней подкормкой рыбы. Питанием рыб, очевидно, обусловлен также более высокий уровень общих липидов мышц и печени по сравнению с таковыми у рыб, зимовавших без подкормки в естественных условиях. Это связано с активацией липидного обмена при повышенной температуре (Романенко, 1977). Считают, что в условиях теплых вод в качестве энергетического субстрата более приемлемым оказывается гликоген, а не жир (Шербина, Мукосева, 1978). Однако, судя по нашим результатам, мы не наблюдали существенных трат гликогена за период зимовки. Возможно, это объясняется тем, что при кормлении рыб зимой на теплых водах в их печени, наряду с гликогенолизом, происходит его новообразование за счет компонентов пищи.

У "тепловодных" сеголеток отмечена лучшая, по сравнению с "холодноводными", оснащенность организма гемоглобином, величины гемоглобина и гематокрита у них были выше аналогичных показателей сеголеток из прудов.

В процессе зимовки в условиях тепловодного рыбного хозяйства в ряде органов и тканей карпа произошли определенные количественные изменения содержания исследованных биометаллов. От

зимних к весенним месяцам отмечено достоверное снижение: в чешуе - Mg (в 1,85 раз,  $p < 0,01$ ), Cu (в 1,49 раз,  $p < 0,05$ ); в коже - Na (в 1,54 раза,  $p < 0,05$ ); в печени - Mg (в 3,19 раза,  $p < 0,01$ ); увеличилось содержание Mn - в чешуе (в 2,16 раз,  $p < 0,001$ ), жабрах (в 2,26 раз,  $p < 0,001$ ), позвоночнике (в 2,88 раз,  $p < 0,001$ ); Cu - в печени (в 4,70 раза,  $p < 0,01$ ); Na - в мышцах (в 1,69 раза,  $p < 0,01$ ), позвоночнике (в 1,58 раза,  $p < 0,05$ ); K - в жабрах (в 1,53 раза,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, в условиях тепловодного рыбного хозяйства в исследуемый период функциональное состояние зимующих рыб было удовлетворительным, резерв питательных веществ в организме оставался значительным на протяжении всей зимовки. Вместе с тем, установлено существенное изменение уровня некоторых биометаллов в органах и тканях рыб.

#### IV. Влияние температурного фактора водной среды на физиолого-биохимические и морфофизиологические показатели карпа при длительном голодании в модельных условиях зимовки

С целью дифференцировки влияния собственно температурного фактора на процессы зимовки рыб нами изучались особенности метаболизма голодающих рыб в разных температурных условиях (2, 5 и 10°C) в аквариумах.

Установлено, что с ростом температуры, особенно в первую половину зимовки, ускоряется расходование энергетических субстратов организма голодающими рыбами. Об этом свидетельствует более интенсивное уменьшение индекса печени, падение содержания белка и липидов мышц и печени. Обнаружена тенденция к снижению гематологических показателей (гематокрита и гемоглобина). При этом в мышечной ткани отмечено усиление утилизации свободных аминокислот с повышением температуры, которое осуществлялось преимущественно за счет заменимых аминокислот. Также, как и у прудовых рыб, в общем пуле свободных аминокислот было выше относительное содержание глицина (до 74 моль%), а также аланина (до 22,6 моль%), лизина (до 9,9 моль%) и гистидина (до 18,7 моль%). Преобладающая мобилизация заменимых аминокислот в ходе обмена веществ наблюдалась также в печени и плазме крови. Влияние температуры на уровень аминокислот в плазме крови силь-

нее всего было выражено в первую половину зимовки (уменьшение их содержания с ростом температуры). В дальнейшем их концентрация стабилизировалась примерно на одном уровне, не зависящим от температуры, достигнув, вероятно, какого-то оптимального для данных условий предела.

Таким образом, метаболизм аминокислот в голодающем организме рыб тесно связан с температурным режимом водной среды. С повышением температуры происходит активация протеолитических процессов у рыб, особенно во второй половине зимовки, следствием чего может быть рост содержания аминокислот в тканях. Если содержание белка в организме достаточно низко, то такие процессы могут привести к преждевременному истощению организма зимующих рыб. Следовательно, повышенная температура зимовки рыб на фоне их голодания может отрицательно сказываться на жизнестойкости посадочного материала.

Температурный фактор оказывал существенное влияние на обмен микро- и макроэлементов в органах и тканях голодающей молоди карпа. Об этом свидетельствуют значительные изменения их уровня, прежде всего в функционально активных органах, таких как почки, печень, селезенка и жабры. Эти органы больше остальных склонны накапливать некоторые металлы, в частности медь, железо, кобальт. В костной и покровной ткани много находилось цинка и марганца, а калий и натрий наиболее равномерно распределены в организме зимующих рыб. Заметна активация обменных процессов в весенние месяцы, что, вероятно, связано с подготовкой рыбы к активному выходу из зимовки. С повышением температуры водной среды обмен биоэлементов был выражен сильнее. Обращает внимание рост содержания ряда элементов (медь, кобальт, цинк, железо) к концу зимовки в почках и жабрах, более интенсивный при высокой температуре. Это может быть связано с активным участием этих органов в обмене катионов с внешней средой и обусловлено их выделительной функцией.

С целью уточнения степени влияния как температуры, так и длительности голодания на обмен биометаллов у зимующих рыб, полученные результаты были подвергнуты дисперсионному двухфакторному анализу. Он, в частности, показал что температура водной среды достоверно влияла на концентрацию таких элементов как

цинк, натрий, калий и железо в крови ( $p < 0,01-0,05$ ), что, вероятно, обусловлено связующей ролью этой ткани в межклеточном перераспределении биометаллов и ее непосредственное участие в поддержании ионного гомеостаза. Оказалось также, что изучаемые факторы зимовки рыб (температура и длительность голодания) достоверно влияли на содержание почти всех изученных металлов (кроме цинка) в мышцах. Совместное действие изучаемых факторов на накопление металлов в исследуемых тканях статистически достоверным ( $p < 0,01-0,05$ ) оказалось: в коже - для магния, цинка, меди, кобальта; в мышцах - для магния, марганца, меди, кобальта, железа, натрия, калия; в печени - для магния и натрия; в почках - для цинка, меди, калия; в селезенке - для железа; в жабрах - для магния, цинка, кобальта; в позвоночнике - для марганца, цинка, кобальта, натрия, железа; в чешуе - для магния, цинка, кобальта; в крови - для магния, марганца, цинка, меди, кобальта, железа, натрия, калия. Таким образом, наиболее подверженным действию изучаемых факторов оказался цинк, менее - магний и кобальт, а из тканей (влияние в целом на минеральный состав) - кровь и мышцы, в которых концентрация всех анализируемых элементов достоверно зависела от времени и температуры. Активное влияние факторов зимовки на минеральный состав крови объясняется прежде всего тем, что эта ткань является связующим звеном в межклеточном перераспределении биометаллов и принимает непосредственное участие в поддержании ионного гомеостаза. Мышечная ткань представляет собой интенсивно работающую систему организма с наличием в ней определенных ферментных систем, активизируемых соответствующими металлами. Поэтому, с одной стороны, мышечная ткань является потребителем макро- и микроэлементов (Горегляд, Шевченко, Хохлов, 1976). С другой стороны, считают, что основная доля абсолютного запаса микроэлементов группы металлов в организме локализуется в мышечной ткани и скелете (Петухов, Морозов, Добрусин, 1983). Поскольку скелет в отношении метаболизма металлов чрезвычайно консервативен (Paradopolou, Moraitopou-Kassimati, 1977), то, вероятно, в условиях зимнего дефицита металлов их недостаток в других тканях восполняется прежде всего за счет мышечной ткани.

V. Влияние тяжелых металлов (на примере меди) и биопротекторов на физиолого-биохимический статус сеголеток карпа в процессе зимовки

Наряду с температурой водной среды, другим важным фактором, могущим осложнить зимовку рыб, является накопление в водоемах тяжелых металлов, вызывающих в ряде случаев развитие интоксикации рыб. Изучение степени воздействия ионов тяжелых металлов на процессы зимовки мы проводили на примере меди.

Установлено, что медь в исследуемой концентрации (0,1 мг/л) способствовала ускорению расходования энергетических субстратов, что проявилось в интенсификации процессов глико- и липолиза. Отмечена активация белкосинтетических процессов в печени, что, возможно, связано с образованием в этом органе металлотионеинов - специфических белков, образующихся в организме в ответ на интоксикацию его тяжелыми металлами. Реакция рыб на действие ионов меди определялась физиологическим состоянием рыб. У энергетически менее подготовленных к зимовке рыб ("слабые" особи), в отличие от "сильных", отмечена тенденция к накоплению гликогена и липидов печени.

Одним из интегральных показателей, характеризующих физиологический статус организма в неблагоприятных условиях, является перекисное окисление липидов (ПОЛ). В условиях эксперимента реакция системы ПОЛ организма голодающих рыб соответствовала адаптивному синдрому - кратковременное изменение на начальной стадии экспозиции с последующим возвратом к уровню контрольных величин.

Таким образом, усиление энергообмена голодающих рыб под действием соли меди в концентрации 0,1 мг/л может существенно осложнить нормальный ход зимовки, поскольку обнаруженные изменения в обмене веществ вызывают преждевременное истощение рыб.

В природных водоемах ионы меди чаще всего находятся в связанном состоянии. Это обусловлено комплексообразованием тяжелых металлов с различными по строению и функциям веществами. Такими соединениями, в частности, являются гуматы. В связи с этим, представляло интерес исследовать способность гуминовых веществ элиминировать действие тяжелых металлов на рыб в условиях зимнего голодания. Результаты этих исследований показали, что, гуматы (гумат натрия) не оказывают выраженного действия на снижение

токсичности соли меди. В опытном варианте наблюдалось ускорение расходования энергоресурсов голодающего организма рыбы. Гумат натрия, однако, несколько смягчал действие меди на систему ПОЛ, на что указывают менее выраженные изменения этого параметра при совместном действии гумата и меди по сравнению с действием только меди.

Кроме комплексообразующей способности, гуматы обладают ярко выраженным физиологическим действием на живые организмы, что проявляется в ускорении ростовых процессов, повышении устойчивости организма к неблагоприятным факторам и т. д. (Демьяненко, 1980; Лукьяненко и др., 1980; Гуматы натрия, 1991). Изучение влияния гумата натрия на процессы зимовки показало, что биологическое действие гумата натрия на организм зимующих рыб при температуре 4°C было неоднозначным и определялось его концентрацией в воде и длительностью экспозиции. Под воздействием препарата в концентрации 0,01 г/л в течение одного месяца обнаружено изменение интенсивности обменных процессов, о чем свидетельствует повышенное содержание белков, липидов и гликогена в печени и мышцах рыб по сравнению с контролем. Это сопровождалось возрастанием уровня ПОЛ в печени и снижением его в железистом аппарате жабр. Это обусловлено, вероятно, разной функциональной ролью этих органов в организме рыб.

При более продолжительном (2 мес.) воздействии гумата натрия на организмы зимующих сеголеток карпа отмечено снижение эффективности его биологического влияния и приближение показателей, характеризующих вышеуказанные обменные процессы, к контрольному уровню.

Концентрация гумата 0,1 г/л вызвала усиление использования питательных веществ организмом рыб, следствием чего был более низкий их уровень по сравнению с контролем.

Таким образом, гумат натрия в концентрации 0,01 г/л вызвал кратковременное снижение энерготрат голодающей молоди карпа, что, вероятно, может иметь положительное влияние в условиях зимовки, особенно на ее заключительных этапах. Вместе с тем, более высокая концентрация гумата натрия (0,1 г/л) оказала неблагоприятное действие на процессы зимовки рыб, что выразилось в существенном снижении резерва ряда питательных веществ в их организме. Поэтому, излишняя гумификация прудовых вод может быть одной из

причин, ухудшающих условия зимнего содержания рыб.

Другим физиологически активным веществом, могущим благоприятно влиять на процессы зимовки рыб, является перекись водорода.

Как показали исследования, в процессе голодания в условиях действия перекиси водорода у сеголеток карпа происходит более экономное использование резерва почти всех изученных веществ (белка, липидов и гликогена мышц и печени). На это указывает более высокий их уровень по сравнению с таковыми контрольных особей, а также более высокие значения коэффициента упитанности и индекса печени у подопытных групп рыб. Под влиянием перекиси водорода отмечено замедление процессов протеолиза. Об этом говорит снижение скорости выведения аммиака. В опытных условиях наблюдалось также снижение ПОЛ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что перекись водорода может улучшить процессы зимовки у рыб.

В период зимовки, как на то указывают некоторые литературные данные (Сигов, 1940; Бренер, 1974) и наши собственные наблюдения, рыба находится в состоянии более или менее выраженной локомоторной активности. С другой стороны, совокупность абиотических факторов окружающей среды, действующих на организм зимующих рыб, можно рассматривать как мощный стрессовый фактор. В связи с этим, представляло определенный интерес изучить особенности обмена веществ у зимующих рыб в условиях снижения действия стресса и замедления их двигательной активности. Для этих целей был применен один из препаратов нейротропного действия - феназепам. Это вещество обладает чрезвычайно высокой антистрессовой эффективностью и практически устраняет гибель рыб от стресса, а обездвиживающий эффект значительно снижает уровень травмируемости рыб.

В наших опытах действие феназепам на процессы зимовки у сеголеток карпа зависело от его концентрации и температуры водной среды. Так, под воздействием препарата в концентрации 1 мг/л и температуре 4°C в течение 2 месяцев обнаружено уменьшение энерготрат, о чем свидетельствует повышенное содержания суммарных белков и липидов мышц и печени и гликогена мышц по сравнению с контролем. Концентрация феназепам 2 мг/л оказалась летальной для рыб, они погибли после месячной экспозиции.

В условиях повышенной температуры (10°C) влияние феназепам

в концентрации 1 мг/л на рыб заключалось в снижении интенсивности трат белка мышц и печени, содержание которого в конце второго месяца эксперимента было достоверно выше, чем в контроле. Вместе с тем, усилилась мобилизация липидов мышц и гликогена печени.

Во всех случаях отмечалось значительное снижение локомоторной активности рыб.

Таким образом, в результате действия феназепама в концентрации 1 мг/л при температуре 4°C запас резервных питательных веществ у сеголеток карпа к концу периода голодания был выше, чем у контрольных особей, а при повышенной температуре наблюдалось замедление протеолитических процессов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение процессов зимовки рыб в разных экологических условиях показало, что ее состояние в этот период определяется сложным взаимодействием факторов водной среды и наследственно детерминированной эндогенной сезонной ритмикой обмена веществ.

Установлено ведущее значение температурного фактора в протекании метаболизма зимующих рыб. С повышением температуры водной среды ускоряется обмен веществ, что сопровождается интенсификацией расходования резерва питательных веществ, пула свободных аминокислот, наблюдается перестройка обмена микро- и макроэлементов и происходят процессы их межтканевого перераспределения в организме рыб.

Показано негативное влияние токсических доз тяжелых металлов на состояние голодающих рыб в условиях низкой температуры. Под действием ионов меди отмечено преждевременное истощение подопытных особей.

Как показали исследования, перспективным направлением в практическом рыбоводстве может стать применение биологически активных соединений. В частности, установлено благотворное влияние на процессы зимовки таких биопротекторов, как перекись водорода и феназепам. В условиях действия этих веществ в организме рыб замедлялись процессы расходования резерва питательных веществ и улучшалось физиологическое состояние рыб.

## ВЫВОДЫ

1. В процессе зимовки сеголеток карпа в прудовых условиях установлено приоритетное использование в обмене веществ белка мышц и печени на начальном этапе зимовки, липидов и гликогена печени в конце ее, сопровождавшееся постепенным снижением содержания липидов мышц в течение всей зимовки.

2. В ходе зимнего голодания рыб в естественных условиях (пруды) в организме карпа происходила динамическая перестройка обмена свободных аминокислот в печени, мышечной ткани и плазме крови, которая заключалась в снижении суммарного содержания аминокислот (в основном заменимых) в мышцах и фазных изменениях их содержания в плазме крови и печени.

3. В процессе зимовки у прудовых рыб происходит межтканевое перераспределение микро- и макроэлементов (магния, марганца, цинка, меди, железа, кобальта, натрия и калия), заключающаяся в их активном вовлечении в обмен веществ прежде всего печени, почек, селезенки и жабр за счет депонирующих органов (покровные ткани и костная ткань).

4. Зимовка сеголеток карпа в условиях прудового тепловодного рыбного хозяйства при повышенной температуре и наличии подерживающего рациона не вызывает значительных трат резерва энергетических субстратов (белка, липидов и гликогена мышц и печени), однако сопровождается существенным изменением минерального состава депонирующих (чешуя, костная ткань) и функциональных (печень, железистый аппарат жабр) органов и тканей рыб.

5. Повышение температуры зимовки (с 2 до 10°C) в модельных условиях вызывает интенсивное использование энергетических ресурсов голодающих рыб, заключающееся в более ранней мобилизации белка мышц и ускорении процессов липолиза.

6. С ростом температуры в условиях продолжительного голодания возрастает интенсивность использования в обменных процессах в основном заменимых свободных аминокислот мышечной ткани.

7. В процессе зимнего голодания при повышенном температурном режиме изменяется минеральный состав тканей рыб с преобладанием накопления микроэлементов (меди, цинка, железа, кобальта) в выделительных органах (почках, железистом аппарате жабр).

8. Под воздействием токсиканта (меди в концентрации

0,1 мг/л) в ходе зимовки усиливается интенсивность использования питательных веществ эндогенного происхождения, ускоряются липо- и гликолитические процессы в печени и липогенез в мышечной ткани карпа.

9. Введение в водную среду перекиси водорода способствует снижению расхода энергетических субстратов у зимующих рыб в процессе длительного голодания.

10. Эффективность биологического действия биопротектора (гумата натрия) на скорость использования энергетических ресурсов определяется его концентрацией в воде: под воздействием концентрации 0,01 г/л гумат натрия кратковременно замедляет расход энергетических субстратов, при более высокой (0,1 г/л) концентрации - способствует интенсивному использованию их и преждевременному истощению зимующих рыб.

11. Применение гумата натрия в концентрациях 0,01 и 0,1 г/л в качестве комплексообразователя тяжелых металлов не оказало существенного влияния на снижение степени токсичности соли меди (0,1 мг/л) на организм карпа в процессе его зимовки.

12. Замедление двигательной активности рыб в условиях длительного голодания с применением препарата феназелама (1 мг/л) сопровождается снижением использования питательных веществ эндогенного происхождения в поддержании жизнедеятельности зимующих рыб.

Материалы диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Домашлинец В. Г. Влияние температуры среды обитания на некоторые биохимические и морфофизиологические показатели сеголетков карпа в процессе зимнего голодания // Актуальные вопросы водной экологии: Материалы Всесоюз. конф. молодых ученых, Киев, 22-24 ноября 1989 г. - Киев, 1990. - С. 44-46.

2. Домашлинец В. Г., Евтушенко Н. Ю. Особенности аминокислотного состава тканей рыб в процессе длительного голодания в разнотемпературных условиях. - Киев, 1991. - 39 с. - Рукопись деп. в ВИНТИ, № 3357-В91.

3. Домашлинец В. Г., Евтушенко Н. Ю. Особенности и динамика аминокислотного состава органов и тканей рыб в процессе зимовки. Киев, 1991. - 24 с. - Рукопись деп. в ВИНТИ, № 3844-В91.

ЛНБ ім. В. Стефаника  
АН України



---

Подписано к печати 01.02.93. Формат 60x84 1/16. Бумага тип.  
Офсетная печать. Усл.печ.л. 1,16. Тираж 100 экз. Зак. 341в.

---

ППП корпорации УкрНТИ, 252171, Киев-171, ул. Горького, 180.

471402



1840

1840

AB 26.807

**AB 26.807**